Aus der Hals-Nasen- und Ohren-Universitätsklinik und Poliklinik
Würzburg
Direktor: Prof. Dr. W. Kley

DIE TALGZELLFUNKTION DER ZYMBALDRÜSE DER RATTE WÄHREND DER HYPERPLASIOKARZINOGENESE, INDUZIERT DURCH TRANS - 4 - DIMETHYLAMINOSTILBEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Vinzenz Haas

aus Poppendorf / Fränk. Schweiz

Würzburg, den 29. Oktober 1980

1981

Aus der Hals-Nasen- und Ohren-Universitätsklinik und Poliklinik
Würzburg
Direktor: Prof. Dr. W. Kley

DIE TALGZELLFUNKTION DER ZYMBALDRÜSE DER RATTE WÄHREND DER HYPERPLASIOKARZINOGENESE, INDUZIERT DURCH TRANS - 4 - DIMETHYLAMINOSTILBEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Vinzenz Haas

aus Poppendorf / Fränk. Schweiz

Würzburg, den 29. Oktober 1980

Referent:	Prof. Dr. I.F. Herrmann
Korreferent:	Prof. Dr. W. Kley
Dekan:	Prof. Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 28.7.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

Meiner Frau Gabriele

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543520_0147

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I	EINLEITUNG	1
II	MATERIAL UND METHODIK	5
	1. Materialbeschreibung	5
	2. Trans-4-Dimethylaminostilben	6
	3. Die Zymbaldrüse der Ratte	8
	3.1 Das Enzymmuster der Zymbaldrüse	9
	4. Histochemische Methodik	11
	4.1 Färbungen	12
	4.2 Sudan-III-Färbung	13
	5. Stadieneinteilung	14
	5.1 Histologische Auswertung	16
	6. Photographische Dokumentation	17
III	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	18
	1. Die Hyperplasiokarzinogenese	18
	1.1 Die enzymhistochemisch differenzierbaren Zelltypen	18
	1.1.1 Zelltyp 1	18
	1.1.2 Zelltyp 2a	19
	1.1.3 Zelltyp 2b	21
	1.1.4 Zelltyp 3	23
	1.1.5 Zelltyp 4a und 4b	23
	1.2 Die Stadien der Hyperplasiokarzinogenese	24
	1.2.1 Stadium I - IIb	25
	1.2.2 Stadium III	29
	1.2.3 Stadium IV	30
	1.3 Zysten	32
	2. Statistische Auswertung	36
IV	DISKUSSION	40
V	ZUSAMMENFASSUNG	56
VI	LITERATURVERZEICHNIS	57

I EINLEITUNG

In den letzten Jahrzehnten wurden verschiedene Theorien aufgestellt und zahlreiche Untersuchungen vorgenommen, um das Grundprinzip der Karzinogenese zu ergründen. Die Karzinogenese wurde mit physikalischen, chemischen und virogenen Noxen induziert, wobei besonders die chemischen Karzinogene eine ausgeprägte Organspezifität aufwiesen. Dadurch wurde es möglich, ein bestimmtes Organ zu kanzerisieren und den Ablauf der Karzinogenese zu untersuchen. So ließen sich Modelle entwickeln, mit denen biophysikalische und biochemische Veränderungen der Zelle während der Karzinogenese erfaßt werden konnten.

BERENBLUM (1941, 1964) zeigte an der chemisch induzierten Karzinogenese der Mäusehaut, daß die neoplastische Transformation einen Mehrschrittprozeß darstellt, der in Initial- und Promotionsphase eingeteilt wird. Ein weiteres, wichtiges Charakteristikum der Biologie der Onkogenese sieht FARBER (1968) in der relativ langen Periode, die zwischen dem Ende der Applikation des Karzinogens und dem Erscheinen der neoplastischen Zellen liegt. Eine erhöhte Proliferation oder Hyperplasie zwischen Exposition des Karzonogens und der ersten erkennbaren transformierten Zelle versteht er als offensichtliche Notwendigkeit des karzinogenen Prozesses. Solche Hyperplasien wurden bei chemisch induzierten Leberkarzinomen und bei viral bedingten Mammakarzinomen der Maus beobachtet.

Diese einzelnen Phasen der Karzinogenese sind experimentell mit chemischen Karzinogenen nachweisbar, wie aus Untersuchungen von HECKER (1968) hervorgeht. An Dimethylbenzanthracen- induzierten Tumoren der Mäusehaut, in Verbindung mit der Applikation von Phorboldiestern aus Crotonöl als Cokarzinogene, welche an sich keine Karzinogene sind, konnte er die Initial- von der Promotiosphase abgrenzen, In weiteren Versuchen bestätigten ARMUTH und BERENBLUM (1974) die Promotionseigenschaften der Phorboldiester bei Dimethylbenzanthracen- induzierten Brusttumoren weiblicher Wistar-Ratten.

Der Metabolismus der karzinogenen Noxen wurde unter anderem von MILLER und MILLER (1961, 1969) und MILLER und Mitarbeiter (1974)

sowie NEUMANN und Mitarbeiter (1970) und NEUMANN (1971) angegangen, welche den Stoffwechsel und das Verhalten von chemischen Karzinogenen im Organismus untersuchten, um Aussagen über mögliche metabolische Veränderungen und Wirkungen der Karzinogenese machen zu können.

Entscheidend bei der Karzinogenese sind Veränderungen der karzinogen geschädigten Zelle. Das Verhalten der Zelle während der Karzinogenese wird mit biochemischen, biophysikalischen, pathohistologischen und immunologischen Methoden untersucht. Es lassen sich daraus Erkenntnisse über Alterationen des Zellkerns, der Proliferationskinetik, der immunologischen Vorgänge und der membrangebundenen und zytoplasmatischen Proteine gewinnen. Die Synopsen dieser Ergebnisse geben Aufschluß über Ursachen der zellulären Transformation, sowie über definierte Gesetzmäßigkeiten während der Karzinogenese.

MAGEE und BARNES (1962) erzeugten mit Dimethylnitrosamin Nierentumoren der Ratte. Die Ursache der Kanzerisierung durch Dimethylnitrosamin vermuteten sie in einer Methylierung der Nucleinsäuren. Nach Versuchen von MATSUMURA (1966) zeigte sich in chemisch induzierten Tumoren der Glandulae sublingualis und submandibularis der Maus ein Aktivitätsanstieg der alkalischen Phosphatase in der Anfangsphase des Versuches, welcher sich allmählich reduzierte.
Desgleichen wiesen VAKHTER und KOOL (1967) in präkanzerösen Herden der Kaninchenhaut histochemische Veränderungen nach. Sie fanden einen Anstieg der Aktivitäten der sauren und alkalischen Phosphatase, die sie als Hinweis auf eine Zunahme der malignen Potenz der Tumorherde deuteten. Auch an anderen Geweben wurden solche Untersuchungen durchgeführt, vor allem an der Leber durch FARBER (1968) und SCHAUER und KUNZE (1968) und am Urothel der Ratte durch KUNZE und SCHAUER (1970) und KUNZE und Mitarbeiter (1971).

Besondere Beachtung verdienen dabei die Versuche von SCHAUER und KUNZE (1968) an der Diäthylnitrosamin- kanzerisierten Rattenleber. Bereits vor dem Auftreten von Mikrokarzinomen konnten sie einen Ausfall der Glucose- 6 - Phosphatase mit

gleichzeitiger Glykogenspeicherung und Vermehrung der RNS- und DNS-Synthese nachweisen. BANNASCH und MÜLLER (1964) kamen nach Induktion von Lebertumoren an Ratte und Maus mit N-Nitosomorpholin zu gleichen Ergebnissen. Nach ihrer Ansicht stellt sich die Glykogenspeicherung als Folge des chemisch induzierten Enzymdefektes der Glucose- 6 - Phosphatase ein.
Auch RABES, SCHOLZ und HARTENSTEIN (1970), die an kanzerisierten und teilhepatektomierten Ratten das Proliferationsverhalten untersuchten, konnten dies bestätigen. Ferner kamen sie zu dem Schluß, daß die kanzerisierte Zelle einem autonomen Wachstum unterliegt, sobald sie sich dem normalen Wachstumsverhalten des ursprünglichen Gewebes entzieht. Nach Gabe von Diäthylnitrosamin kam es nach 40 Tagen in den Enzymausfallbezirken der Glucose - 6 - Phosphatase nur nach Teilhepatektomie zum Proliferationsanstieg, während um den 120. Tag in den Enzymausfallsbezirken eine endogene Proliferation ohne Wachstumsreiz begann. Mit dem Anstieg der endogenen Proliferation kam es zu einem Verlust der Induzierbarkeit der DNS-Synthese nach partieller Hepatektomie. Aus diesen Versuchen läßt sich auch der Zusammenhang zwischen ständigem Proliferationsreiz, wie ihn die Teilhepatektomie auslöst, und der Karzinogenese erkennen.

Die enzymhistochemischen Veränderungen zeigen auf, daß bereits vor Auftreten von Karzinomzellen in der Zelle irreversible Alterationen ablaufen. Ein chemisches Karzinogen führt in den Zellkompartimenten eines bestimmten Organs zu Veränderungen, wie sie anhand der Enzymausfälle nachweisbar sind.
HERRMANN (1974) konnte an der mit trans - 4 - Dimethylaminostilben-kanzerisierten Zymbaldrüse der Ratte ein Modell vorstellen, mit welchem er den stadienhaften Ablauf der Karzinogenese aufzeigte. Dieser läßt sich sowohl in den enzymhistochemischen Veränderungen, wie in autoradiographischen Befunden und in den zeitlichen Abläufen eindeutig dokumentieren. Außer dem kanzerogenen Effekt des trans- 4 - Dimethylaminostilbens tritt in diesen Untersuchungen eine hyperplasiogene Komponente in Erscheinung, welche ebenfalls irreversibel ist. Ähnliche Beobachtungen wurden auch von EVESON und McDONALD (1978) bei der Kanzerisierung der Backentaschen des Hamsters gemacht, wo sich eine Hyperplasie der Basalzellen ausbildete.

Neben den Fragen nach dem Angriffspunkt der Noxe und deren Auswirkung auf die zelluläre Transformation, ist das Problem der Änderung der Struktur und Funktion der Zelle während der chemisch induzierten Karzinogenese nach BANNASCH und H.z. HAUSEN (1971) von entscheidender Bedeutung.

Die vorliegende Arbeit versucht, Veränderungen und Funktion der Talgzellen unter besonderer Berücksichtigung der Talgproduktion als spezifische Zelleistung im Verlauf der Hyperplasiokarzinogenese der Zymbaldrüse der Ratte, induziert durch trans-4 - Dimethylaminostilben, zu erfassen und die Zystengenese unter diesem Aspekt zu untersuchen.

II. MATERIAL UND METHODIK

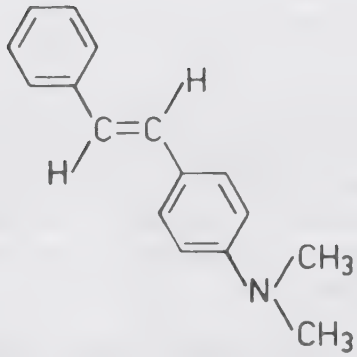
1. Materialbeschreibung

Die vorliegende Untersuchung wurde an 45 Wistar-Ratten durchgeführt, die bei Versuchsbeginn durchschnittlich 200 Gramm wogen. Um mögliche zyklusbedingte hormonelle Einflüsse auf die Talgdrüsen auszuschalten und um ein homogenes Untersuchungsgut zu erhalten, wurden nur männliche Tiere verwendet.

Die Tiere wurden 170 Tage lang mit trans- 4 - Dimethylaminostilben, welches in Brot eingebacken war, in einer Dosis von 1 mg pro Kilogramm Körpergewicht gefüttert. Anschließend erfolgte die Fütterung mit Altromin- Standard - Kost; Wasser erhielten die Tiere ad libitum. Die Tierhaltung erfolgte in vollklimatisierten Tierställen.

Zwischen dem 120. und 510. Tag nach Kanzerisierung wurden die Tiere getötet, die Zymbaldrüse durch einen auriculären Schnitt herauspräpariert und zur weiteren histologischen Aufarbeitung tiefgefroren.

2. Trans- 4 - Dimethylaminostilben



trans-4-Dimethylaminostilben

Fig. 1: Strukturformel von trans- 4 - Dimethylaminostilben

Das benutzte trans- 4 - Dimethylaminostilben (Fa. Schuchardt, Präp. Nr. D I 7786) wurde spektrophotometrisch auf Reinheit überprüft. Bei der 2 x 10^{-4} M Lösung in Petroläther ergaben sich Absorptionsmaxima bei 347 /um und 236 /um. NEUMANN und andere (1970) gaben die Absorptionsmaxima von trans- 4 - Dimethylaminostilben mit 347 /um und 237 /um an. Demnach beträgt der Reinheitsgrad, der hier verwendeten Substanz, nahezu 100 %.

Trans- 4 - Dimethylaminostilben ist ein chemisches Karzinogen und gehört seiner Struktur nach zu den aromatischen Aminen, die befähigt sind, Tumore in der Ratte, speziell an der Zymbaldrüse, hervorzurufen (BALDWIN et al. 1968; SCHMÄHL und THOMAS 1965). Die Tumorausbeute schwankt von Autor zu Autor, je nach Versuchsbedingungen, applizierter Gesamtdosis und der Zeit, in der die Tiere untersucht wurden. So fand SCHMÄHL 1965 eine Tumorinzidenz

von 75 bzw. 100 % bei einer Tagesdosis von 1,2 mg/kg bzw. 1,7 mg/kg und einer mittleren Gesamtdosis von 383 ± 45 mg/kg bzw. 405 ± 77 mg/kg Körpergewicht. Auch NEUMANN u.a. (1970) und HERRMANN (1974) berichten in ihren Untersuchungen über eine Tumorausbeute von nahezu 100 %. Nach den Arbeiten von NEUMANN u.a. (1970) ist nur die Trans-Form des Dimethylaminostilbens zur Tumorinduktion in der Lage, während bei der Cis-Form keine Veränderungen der Zymbaldrüse und am äußeren Gehörgang beobachtet werden konnten.

Angaben von RJOSK und NEUMANN (1971) und METZLER und NEUMANN (1971) zufolge, welche Tritium-markiertes trans-4-Dimethylaminostilben verwandten, um dessen Stoffwechsel im Organismus zu untersuchen, wird trans-4-Dimethylaminostilben weder über die Gehörgangsdrüse ausgeschieden noch dort retiniert, was bei positiven Ergebnissen unter Umständen als Hinweis auf die Organspezifität hätte dienen können. Trans-4-Dimethylaminostilben wird nach ihren Untersuchungen bei oraler Applikation zwar im Fettgewebe und in der Zymbaldrüse in den ersten Stunden vermehrt angereichert, welcher Vorgang auf die Lipophilie dieser Substanz zurückgeführt werden kann, aber keineswegs einen Beweis für die Organotropie dieses Karzinogens liefert. Zur Frage der Reaktion im Organismus konnten sie zeigen, daß trans-4-Dimethylaminostilben in der Leber vermehrt gebunden, dort verstoffwechselt, aktiviert und anschließend hauptsächlich mit den Faeces in Sulfatbindung, weniger in Glucuronidbindung ausgeschieden wird.

Zum Problem der Aktivierung von aromatischen Aminen, die - wie im Falle des trans-4-Dimethylaminostilbens - per se nicht karzinogen sind, zeigten MILLER und MILLER (1969), daß der erste Schritt zur Kanzerisierung eine N-Hydroxylierung der Acetylamine darstellt. Dieser Reaktion schließt sich eine Veresterung der N-hydroxylierten Acetylamine an, wonach diese reaktivierten Ester in der Lage sind, mit nucleophilen Substanzen - wie Ribonucleinsäuren, Desoxyribonucleinsäuren oder Aminosäuren - zu reagieren und, wie im Versuch mit Bacillus subtilis, Mutagenität auszulösen.

METZLER und NEUMANN (1971) konnten dies auch für trans-4-Dimethylaminostilben bestätigen und sehen wie MILLER u.a. (1974) in den reaktivierten Estern der metabolisierten Aminostilbene letztlich die karzinogene Wirksubstanz. Nach MILLER und MILLER werden solche reaktivierten Metaboliten von chemischen Karzinogenen auch als ultimale Karzinogene bezeichnet.
MILLER und MILLER (1974) zeigten, daß die Rattenleber fähig ist, aus trans-4-Dimethylaminostilben reaktive Metaboliten zu bilden. Diese könnten in molekulare Strukturen der Zelle eingebaut werden und dort zu Änderungen des Zellmetabolismus führen. Die molekularen Mechanismen der spezifischen Organotropie dieses Karzinogens stellen weiterhin Fragen an differenzierte Untersuchungen, die Einblick in die molekulare Struktur der Karzinogenese geben.

3. Die Zymbaldrüse der Ratte

Die Ceruminaldrüse der Ratte liegt dem Knorpel des ventralen äußeren Gehörganges an und erstreckt sich in den Zwischenraum zwischen äußerem Gehörgang und aufsteigendem Ast des Unterkiefers; nach medial reicht die Drüse bis zur Pyramide des Schläfenbeines. Zwischen Haut und Drüse liegen die Glandula Parotis, Muskeln, Gefäße und Nerven. Die Gehörgangsdrüse besitzt eine längliche Gestalt und ist aus vier Läppchen aufgebaut, die untereinander mit bindegewebigen Septen verbunden sind. Jedes Läppchen besitzt einen Ausführungsgang, der im Zentrum beginnt und sich mit denen der anderen Läppchen zum Hauptausführungsgang vereinigt. Letzterer mündet in den äußeren Gehörgang an der Stelle zwischen knorpeligem und knöchernem Anteil. Die Ausdehnung der gesamten Ceruminaldrüse entspricht etwa 4 x 3 x 3 mm.

Die Drüsenazini, etwa 40 - 60 pro Lobulus, vereinigen sich zu einem interlobären Ausführungsgang, durch welchen der in den Azini produzierte Talg in den Ausführungsgang und in den Gehörgang gelangt.
In den Drüsenazini finden sich zwei Zellelemente: 1. Die Basalzellen und 2. die differenzierten Talgzellen.

Direkt an der Basalmembran, die einen Azinus umgibt, liegen längliche, abgeplattete Zellen in einer Lage. Ihr Zytoplasma ist stark basophil, der Zellkern relativ groß und oval. Zentralwärts schließen sich an die Basalzellen die eigentlichen Talgzellen an. Sie füllen den ganzen übrigen Azinus aus, ohne ein Lumen zu hinterlassen. Die Zellen sind wesentlich größer als die Basalzellen und gut voneinander abgrenzbar; sie zeigen eine großwabige Struktur, der Zellkern ist im Verhältnis zur Zellgröße relativ klein. In Richtung der Ausführungsgänge nehmen die Zellen an Größe zu und die Kerne degenerieren zunehmend, so daß manchmal nur noch Chromatinreste zu sehen sind.

Die Differenzierung der Talgzellen, die allein zur Talgproduktion befähigt sind, erfolgt überwiegend aus den Basalzellen. Dabei wird der Talg nach noch weitgehend unbekannten Syntheseschritten erzeugt. Gleichzeitig mit der Differenzierung der Basalzelle zur reifen Talgzelle wandert die einzelne Zelle von ihrer basalen Lage in Richtung des Ausführungsganges, wobei sie im Sinne einer Nekrobiose zunehmend nekrotisch wird. Zum Schluß existiert die Zelle nur noch als Talgpaket, welches nach Aufplatzen der Zellmembran in den Ausführungsgang sezerniert wird. Die Sekretion der Gehörgangsdrüse bezeichnet man demnach als holokrin.

Als hochdifferenzierte Zelle besitzt die Talgzelle ein spezielles Enzymmuster, das ihr die Talgproduktion als spezifische Leistung ermöglicht. Die Bildung von Talg stellt somit eine aktive Funktion dieses Zelltyps dar, welche von der Integrität der Zelle und der geordneten, enzymatischen Reaktionsverläufe abhängt.

3.1 Das Enzymmuster der Zymbaldrüse

Zur Aufrechterhaltung ihrer Funktion besitzen die differenzierten Zellen der Zymbaldrüse ein reichhaltiges Enzymmuster, das die Talgproduktion gewährleistet.
Es sind Enzyme aus der Gruppe der Oxidoreduktasen und Hydrolasen, speziell solche der Esterbindung spaltenden vorhanden.

Die folgende Tabelle zeigt die Zusammensetzung des normalen Enzymmusters der Zymbaldrüse der Ratte.

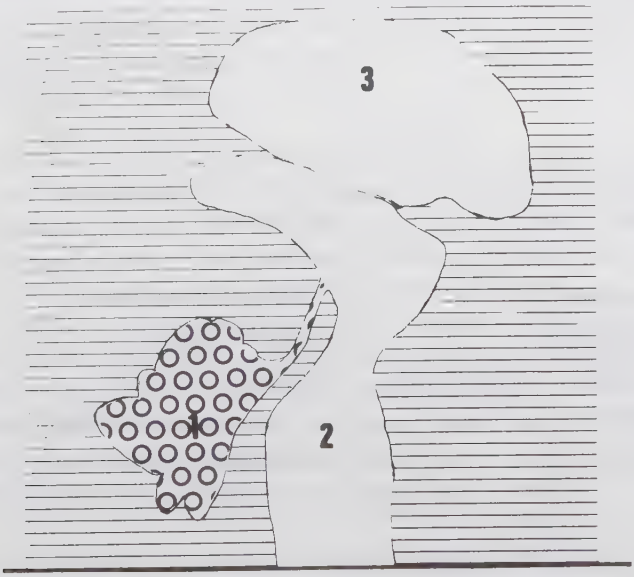
Oxidoreduktasen	Hydrolasen
Lactatdehydrogenase	Saure Phosphatase
Succinatdehydrogenase	Adenosintriphosphatase
Glucose - 6 - Phosphat - Dehydrogenase	5 - Bromindoxylacetatesterase
NADH - Diaphorase	α - Naphtylacetatesterase
Cytochromoxidase	

Tab. 1: Normales Enzymmuster der Zymbaldrüse der Ratte

Die Succinatdehydrogenase, die saure Phosphatase und die Adenosintriphosphatase reagieren nur mit einem schwach nachweisbaren Niederschlag, während die übrigen Enzyme im histochemischen Präparat einen starken Reaktionsniederschlag hervorrufen.

4. Histochemische Methodik

Die freipräparierte Zymbaldrüse wurde mit dem Gehörgang entnommen und auf den Kryostat so aufgestellt, daß die Gehörgangsachse auf dem Kryostattisch senkrecht stand. Dann wurde der Block mit Kohlensäureschnee tiefgefroren und im Kryostat geschnitten. Die Schnittdicke betrug durchschnittlich 4 - 5 µm. Von jeder Drüse wurden neun Stufen zu je neun Schnitten angefertigt. Es ergaben sich pro Drüse 81 Präparate.



1 Zymbaldrüse

2 äußerer Gehörgang

3 Paukenhöhle

Fig. 2: Die Zymbaldrüse auf dem Kryostat-Tisch (Schemazeichnung)

4.1 Färbungen

Um Veränderungen im Stoffwechsel der Talgzellen während der Karzinogenese nachweisen zu können, wurden Färbungen, bzw. histochemische Reaktionen durchgeführt, wie sie in Tabelle 2 dargestellt sind. Die Enzymreaktionen wurden an unfixierten Kryostatschnitten vorgenommen. Zusätzlich wurden Glycogenfärbungen, nach BEST, Hämatoxilin- Eosin- und, um die Talgproduktion zu erfassen, die Sudan- III - Färbung nach DADDI verwendet.

Enzyme

Oxidoreduktasen	Hydroxylasen
Lactatdehydrogenase	Alkalische Phosphatase
Succinatdehydrogenase	Saure Phosphatase
Glucose - 6 - Phosphat - Dehydrogenase	Adenosintriphophatase
NADH - Diaphorase	5 - Bromindoxylacetatesterase
Cytochromoxidase	Alpha - Naphtylacetatesterase

Färbungen

Hämatoxilin - Eosin

Glycogen

Sudan - III

Tab. 2: Zur Differenzierung benutzte Färbungen und Enzymreaktionen

4.2 Sudan - III - Färbung

Zum Nachweis der Talgproduktion als Funktion der spezifischen Leistung der Talgzelle wurden Schnitte mit der Sudan - III - Färbung nach DADDI angefertigt. Mit dieser Färbemethode werden Fette und Fettgemische als orange-roter Reaktionsniederschlag dargestellt.

Die chemische Zusammensetzung des Talges beträgt nach Untersuchungen von MONTAGNA und NOBACK (1948) in den peripheren Anteilen des Talgdrüsen-Azinus Phospholipide und in den reifen Talgzellen sowie im Talg ungesättigte Glyceride und eine Mischung aus Cholesterol-Estern.

WHEATLEY und JAMES (1957) verglichen die Zusammensetzung des an der Körperoberfläche gesammelten Talges verschiedener Nager und fanden für die Ratte einen geringen Anteil freier Fettsäuren neben etwa 50 % gebundener Fettsäuren und etwa 40 % nicht veresterbarer Stoffe. Von letzteren beanspruchen die Wachsalkohole, die nach WHEATLEY von der Talgdrüse stammen, neben Cholesterol und Lathosterol den größten Anteil. Der Rest entfällt auf Alkane, andere Sterole und Hydrocarbone. Auf den hohen Gehalt an Sterolen im Talg der Ratte weist auch NIKKARI hin (1974). Neben diesen Fettsubstanzen beinhaltet der Talg nukleare und zytoplasmatische Überreste der ehemaligen Zellen.

Da der Farbstoff Sudan - III sämtliche dieser Substanzen zu tingieren vermag, eignet er sich zur Erfassung der Funktion der Talgdrüse. Eine Spezifität, wonach Sudan - III selektiv einzelne Fettsubstanzen anfärbt, lehnen KAUFMANN und LEHMANN sowie ROMEIS (1968) ab. Sie weisen vor allem auf die Breite der Färbemöglichkeiten von Fettsubstanzen mit diesem Farbstoff hin, besonders in Verbindung mit Proteingemischen, auch kleiner Konzentrationen, wie sie der Talg darstellt.
Neben dem orange-roten Reaktionsniederschlag der Sudan-III-Färbung sind im reifen Talg einer normalen Talgdrüse histochemische Reaktionen zytoplasmatischer Enzyme nachweisbar.

5. Stadieneinteilung

Die Einteilung der neoplastischen Veränderungen in Stadien erfolgte nach der Stadieneinteilung von HERRMANN (1974) aufgrund der dabei beobachteten enzymhistochemischen Veränderungen. HERRMANN beschreibt vier Stadien der Karzinogenese bis zum manifesten Karzinom, die sich enzymhistochemisch anhand der Enzymmuster in den einzelnen Stadien verifizieren lassen. Die enzymhistochemischen Befunde werden bei den einzelnen Stadien beschrieben.

Tab. 3: Stadieneinteilung anhand der Enzymmuster nach HERRMANN

Enzyme	Stadium I	IIa	IIb	III	IVa	IVb	V
OXIDOREDUKTASEN							
NADH - Diaphorase	+	+	-	-	-	-	-
Lactatdehydrogenase	+	+	-	-	-	-	-
Succinatdehydrogenase	(+)	(+)	(+)	(+)	++	++	-
Glucose - 6 - Phosphat - Dehydrogenase	+	-	-	-	-	-	-
Cytochromoxidase	+	-	-	-	-	-	-
HYDROLASEN							
1. Phosphatasen							
alkalische Phosphatase	+	+	+	(+)	-	-	-
saure Phosphatase	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	++
Adenosintriphosphatase	(+)	(+)	(+)	(+)	+	-	-
2. Esterasen							
5 - Bromindoxylacetatesterase	+	-	-	-	-	-	-
α - Naphtylacetatesterase	+	-	-	-	-	-	-
Glykogen	-	-	-	+	-	-	-

Stadium V = Tumorwachstum

5.1 Histologische Auswertung

Bei der Auswertung der Präparate wurde so verfahren, daß das Enzymmuster der normalen Zymbaldrüse als Bezug für die enzymhistochemischen Veränderungen während der Karzinogenese diente. Mit Hilfe der Enzymreaktionen wurde für jede Schnittserie das Stadium der Karzinogenese festgelegt. Die so definierten präneoplastischen Bezirke in den einzelnen Stufen wurden mit der Sudanfärbung verglichen. Daraus ergab sich eine Beurteilung der Talgproduktion in den präneoplastischen Herden der einzelnen Stadien.
Dieses Verfahren gibt Einblick in die Funktion der Talgzelle während eines bestimmten Stadiums der Karzinogenese. Ferner können Aussagen über den Funktionszustand der Talgdrüse gemacht werden, während bereits einzelne Drüsenazini neoplastisch verändert sind.

6. Photographische Dokumentation

Zur Erstellung der Photomikrogramme wurde das Photomikroskop Orthoplan mit Photoaufsatz Orthomat der Firma Leitz-Wetzlar benutzt. Als Film diente der Schwarz-Weiß-Film Agfa PAN 25. Die jeweilige Vergrößerung ist unter den einzelnen Abbildungen angeführt.

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Die Hyperplasiokarzinogenese

Die durch trans-4-Dimethylaminostilben induzierte Hyperplasiokarzinogenese der Zymbaldrüse der Ratte besteht nach HERRMANN (1974) aus zwei karzinogenen Komponenten, die letztlich eine gemeinsame Form der Neoplasie entwickeln. Die kanzerogene und hyperplasiogene Schädigung der Zelle ist irreversibel und wird auf die Tochterzelle übertragen. Das hyperplastische Wachstum der Drüsenazini beginnt mit dem Einsetzen der histochemisch nachweisbaren Karzinogenese. Die Wachstumsform dieser Neoplasie ist abhängig von dem Stadium der Hyperplasiokarzinogenese, aus dem sich der Tumor entwickelt. Neben der Hyperplasie entwickelt sich gleichzeitig die Karzinogenese der Talgdrüsenzelle, die in Verbindung mit der Hyperplasie das charakteristische Bild der Hyperplasiokarzinogenese ergibt.

Im folgenden werden zunächst die enzymhistochemisch differenzierbaren Zelltypen, die neben der Wachstumsform der Hyperplasie das Stadium der Hyperplasiokarzinogenese bestimmen, in ihrer zeitlichen Folge während der Karzinogenese beschrieben. Anschließend erfolgt die Stadieneinteilung der einzelnen Wachstumsformen der Hyperplasiokarzinogenese.

1.1. Die enzymhistochemisch differenzierbaren Zelltypen

1.1.1 Zelltyp 1

Bei diesen Zellen handelt es sich um den ersten enzymhistochemisch differenzierbaren Zelltyp der Hyperplasiokarzinogenese. In morphologischer Hinsicht unterscheiden sich diese Zellen nicht von normalen Talgzellen.
Mit den histochemischen Reaktionen kann man, abweichend vom normalen Enzymmuster der Talgzellen, einen nachweisbaren Niederschlag der alkalischen Phosphatase beobachten.Diese Farbreaktion zeigt sich an der Zellmembran von Talgzellen, die der Basalmembran benachbart liegen.

Vergleicht man diese Typ-1-Zellen in identischen Arealen mit der Sudanfarbung, so sieht man eine homogene orangerote Anfarbung, die sich nicht von derjenigen normaler Talgzellen unterscheidet.

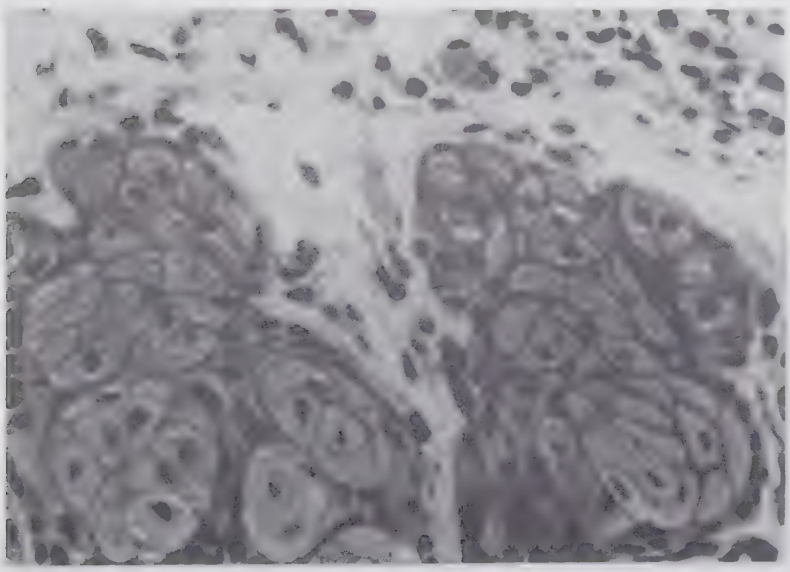


Abb. 1: Hyperplasiokarzinogenese Stadium I, positiver Niederschlag der alkalischen Phosphatase an der Zellmembran (Pfeil →) (Vergr. 512-fach).

1.1.2 Zelltyp 2a

In dem nun folgenden Zelltyp zeigt sich im Hämatoxilin-Eosin-Schnitt eine normale Zellmorphologie, nur gelegentlich können mäßige Kernvergrößerungen sichtbar werden. Die Enzymaktivität der alkalischen Phosphatase nimmt zu und ist jetzt auch im Zytoplasma nachweisbar, während eine Aktivitätsminderung der Cytochromoxidase, der 5-Bromindoxylacetatesterase und der alpha-Naphtylacetatesterase zu verzeichnen ist. Eine Aktivität der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase ist nicht mehr zu erfassen.

Die Sudan-III-Farbung weist im Gegensatz zum Zelltyp 1 eine deutliche Verminderung der Fettsubstanzen in den Zellen auf. Es erscheint in den betroffenen Zellen ein scholliges, orangerotes Material, welches nicht mehr homogen, sondern über die gesamte Zelle verstreut ist und mehr vakuoligen Charakter hat. Auch die Anfarbung der einzelnen Zellen in den neoplastischen Arealen stellt sich unterschiedlich dar. Von noch relativ gut angefarbten Zellen bis zu einzelnen Farbstoffresten lassen sich alle Übergänge beobachten.

Abb. 2: Hyperplastischer Azinus mit Zellen vom Zelltyp 2a (→) und 2b (➡), Hämatoxilin-Eosin-Färbung (Vergr. 128 - fach)

1.1.3 Zelltyp 2b

An den einzelnen Zellen, die dem Zelltyp 2b zuzuordnen sind, werden jetzt ausgeprägte morphologische Veränderungen manifest. Die Zellmembran wird aufgefaltet und dadurch entrundet, das Zytoplasma verblaßt. Es zeigt sich an den Kernen eine vermehrte Amisomorphie mit einem erhöhten Chromatingehalt. Die Zellen sind noch als atypische Talgzellen zu erkennen, wobei man sie nach Form und Aussehen als eine Erscheinung zwischen Basalzellen und Talgzellen definieren könnte.

Abb. 3: Bei den Zellen des Zelltyps 2b wird das gesamte Zytoplasma von einem enzympositiven Niederschlag der alkalischen Phosphatase überzogen (⟶). Verg. 128-fach.

Bei Betrachtung der Enzymfärbung läßt sich eine Aktivitätsminderung der Lactat-Dehydrogenase und der NADH-Diaphorase feststellen, welche manchmal bis zum Verschwinden reduziert ist. Im Vergleich zum Zelltyp 2a verzeichnet die Aktivität der alkalischen Phosphatase einen weiteren Anstieg. Das gesamte Zytoplasma ist nun mit einem Reaktionsniederschlag überzogen.

Die Sudan-III-Färbung zeigt in den Zellen des Typs 2b keinen orange-roten Niederschlag mehr. In einzelnen Zellen können noch, zwar extrem selten, vereinzelt schollige Talgreste zur Darstellung gebracht werden. Die Nichtanfärbbarkeit mit Sudan-III spricht dafür, daß in diesem Zelltyp keine Talgsythese mehr stattfindet. Somit verloren die differenzierten Zellen ihre spezifische Funktion, die sich als eine Leistung hochdifferenzierter Zellen in der Talgproduktion äußerte.

Abb. 4: Hyperplatischer Azinus mit sudannegativen Zellen vom Zelltyp 2b (→), (Vergr. 128-fach).

1.1.4 Zelltyp 3

Die Zellen dieses Zelltyps zeichnen sich durch eine ausgeprägte Basophilie mit kleinen, atypischen Kernen aus. Sie gleichen daher zunehmend den Zellen vom Basaltyp.
Enzymhistochemisch kann die Aktivität der alkalischen Phosphatase nur teilweise nachgewiesen werden. Erstmals tritt eine Glykogenspeicherung in diesen Zellen auf. Eine Anfärbung dieses Zelltyps mit Sudan-III wurde nicht beobachtet. Häufig jedoch stellt sich bei diesen Zellen die äußere Zellmembran im Hämatoxilin-Eosin-Schnitt verbreitert eosinpositiv dar, ein Hinweis auf eine Verhornung der äußeren Zellmembran.

1.1.5 Zelltyp 4a und 4b

Bei histologischer Betrachtung fällt eine Metaplasie der Talgzellen auf, die den Plattenepithelien ähnlich sehen. Die Zellen zeigen unterschiedliche Atypien mit und ohne Verhornung.
Die Aktivität der Succinatdehydrogenase ist deutlich gesteigert. Für die Aktivität der Adenosintriphosphatase erfolgt beim Zelltyp 4a eine Zunahme, während sie beim Zelltyp 4b nicht nachweisbar ist. Mit Sudan-III ergibt sich keine positive Farbreaktion. Nach HERRMANN ist Zelltyp 4 der letzte enzymhistochemisch differenzierbare Zelltyp der Karzinogenese der Zymbaldrüse der Ratte. Aus diesem Zelltyp, zum Teil aber schon bei Erreichen des Zelltyps 3, entwickeln sich einzelne Karzinomformen. Hier kommen vor allem das verhornende Plattenepithel-Karzinom, aber auch das undifferenzierte Karzinom und das Mixed-Type-Karzinom zur Beobachtung. Im Zustand des manifesten Karzinoms läßt sich mit Ausnahme des Mixed-Type-Karzinoms keine sudanpositive Reaktion in den Zellen nachweisen.

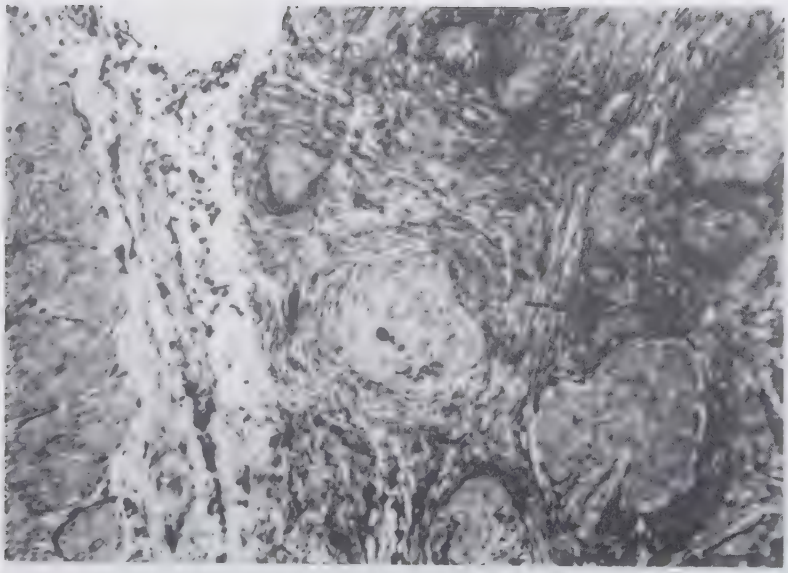


Abb. 5: Hyperplastischer Azinus des Stadiums IIb (links) und verhornendes Plattenepithelkarzinom (rechts), proliferierendes Bindegewebe mit starker enzympositiver Reaktion der alkalischen Phosphatase (⟶) (Vergr. 100-fach).

1.2 Die Stadien der Hyperplasiokarzinogenese

Während der Verlaufsbeobachtung der Hyperplasiokarzinogenese zeigten sich hinsichtlich des Wachstumsverhaltens drei Formen:

1. die einfache Hyperplasiokarzinogenese
2. die Hyperplasiokarzinogenese mit verzögerter Basalzelltransformation

3. die Hyperplasiokarzinogenese mit intraazinär wachsender papillomatöser Hyperplasie.

Die Stadieneinteilung erfolgte dabei neben der Hyperplasieform im wesentlichen nach dem vorliegenden Zelltyp, wobei der am weitesten differenzierte Zelltyp zur Bezeichnung des Stadiums verwendet wurde.

1.2.1 Stadium I - IIb

Bei der einfachen Hyperplasiokarzinogenese kommt es im Stadium I zu einer Hyperplasie der betroffenen Drüsenazini mit Vorliegen des Zelltyps 1.

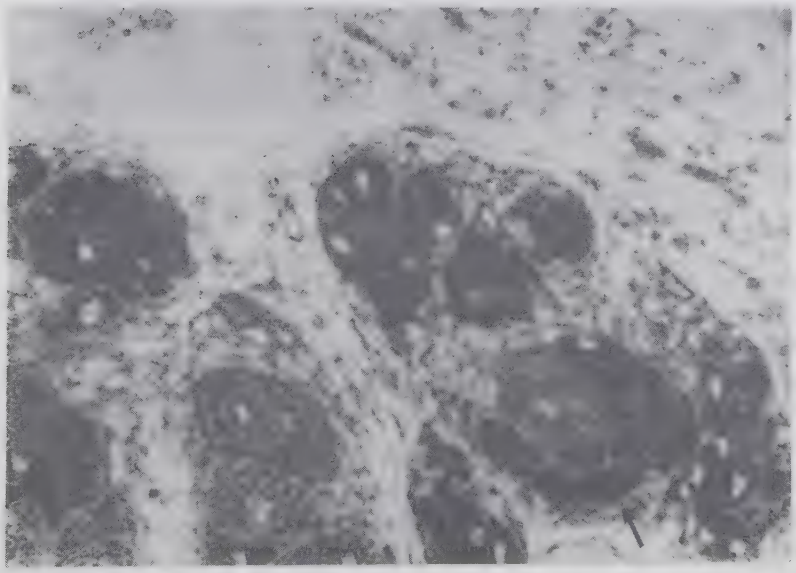


Abb. 6: Azinus einer einfachen Hyperplasiokarzinogenese des Stadiums I, enzympositive Reaktion der NADH-Diaphorase (⟶), (Vergr. 512-fach).

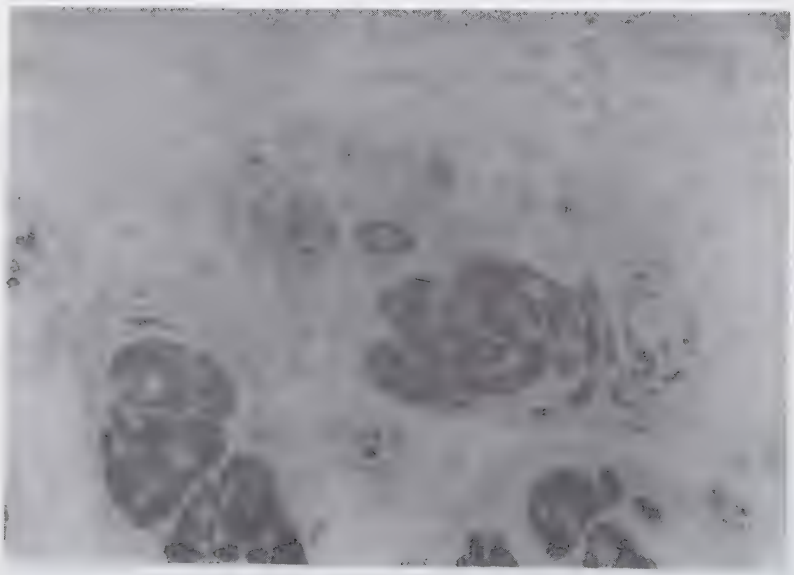


Abb. 7: Stadium I eines hyperplastischen Azinus mit sudanpositiven Zellen, identisch mit Abb. 6
(Vergr. 512-fach)

Im weiteren Verlauf wird die Hyperplasie, insbesondere im Stadium II, deutlicher, und die Zelltypen 2a und 2b treten auf. Es können dabei Zellen verschiedenen Typs durchaus nebeneinander vorkommen. Neben dem hyperplastischen Azinus wird das Bild der einfachen Hyperplasie vorwiegend von dem vorliegenden Zelltyp bestimmt. Die Sudan-III-Färbung zeigt bei Stadium I und IIa positive Reaktionen in den suprabasalen Zellen, im Gegensatz zu Stadium IIb, in welchem bei Vorliegen des Zelltyps 2b der hyperplastische Azinus sudannegativ bleibt.

Die Hyperplasiokarzinogenese mit verzögerter Basalzelltransformation ist charakterisiert durch ein typisches Streifenbild, in dem enzympositive mit enzymnegativen Streifen in dem deutlich hyperplastischen Azinus wechseln. Diese Streifen stehen auf der Basalmembran senkrecht. HERRMANN verweist in diesem Zusammenhang auf die zeitlich verzögerte Transformation einzelner, von der Basalmembran ausgehender Zellgruppen. Auch hier existieren meist Zellen vom Zelltyp 1 - 2b nebeneinander. In der Sudan-III-Färbung ergibt sich somit ebenfalls ein annähernd streifiges Bild, wobei durchaus nur mehr das Zentrum, oder auch nur ein Teil des Azinus eine sudanpositive Reaktion entsprechend dem Vorhandensein des Zelltyps 1 - 2a hervorruft. Insgesamt ist diese Erscheinungsform jedoch selten zu beobachten.

Kommt es während der Hyperplasiokarzinogenese zu einer sehr starken Vermehrung der Basalzellen, so faltet sich die Basalmembran in die Hyperplasie hinein, und es entsteht das Bild der intraazinär wachsenden papillären Hyperplasie. Außer der papillomatösen Erscheinung des hyperplastischen Azinus ist diese Wachstumsform durch die enzymhistochemischen und morphologischen Besonderheiten der Zelltypen 1 - 2b geprägt. Entsprechend ist auch die Anfärbung mit Sudan-III.

Abb. 8: Papilläre Hyperplasiokarzinogenese Stadium IIb.
Reaktion der alkalischen Phosphatase (Vergr. 128-fach).

Abb. 9: Gleicher Azinus wie Abb. 8, Sudan-III-Färbung. Auffaltung der Basalmembran in die Hyperplasie hinein (⟶) (Vergr. 128-fach)

1.2.2 Stadium III

Morphologisch und enzymhistochemisch liegt in den hyperplastischen Azini der Zelltyp 3 vor, welcher zu einer sudannegativen Reaktion führt. Da jedoch noch vereinzelt Zellen des Zelltyps 1 - 2b vorhanden sein können, finden sich auch noch einzelne sudanpositive Zellen. Kennzeichnend für dieses Stadium ist eine durch die Verhornung suprabasaler Zellen vom Zelltyp 3 bedingte Tendenz zur Talgzellnekrose. Lediglich bei der einfachen Hyperplasie fehlt diese, da hier der Zelltyp 3 nicht zur Verhornung neigt.

Entsprechend der verzögerten Transformation treten bei der Hyperplasiokarzinogenese mit verzögerter Basalzelltransformation Teilnekrosen in den Arealen mit Überwiegen des Zelltyps 3 auf. Es ergibt sich ein vielfältiges Bild, in dem sich nekrotische Bezirke mit karzinogen alterierten abwechseln. Teils finden sich zystische Hohlräume, angefüllt mit einer Mischung aus nekrotischem Material und Talg, der noch von intakten Zellen einer noch in Transformation begriffenen Zellsäule stammt.

In einer ähnlichen Ausformung stellt sich die intraazinär wachsende papilläre Hyperplasie dar. Hier kommt es teilweise zu Nekrosen einer solitären papillomatösen Auffaltung, während der übrige hyperplastische Azinus Zellen verschiedenen Typs beinhaltet. Es überwiegt jedoch die Ausbildung zystischer Erscheinungen, teils mit Vorliegen von noch transformierenden Epithelien, die als zapfenförmige Gebilde in die Zysten hineinragen. In der Sudan-III-Färbung stellen sich diese Azini meist als Hohlräume mit einzelnen sich von der Zystenwand abhebenden Zellgruppen dar, in denen ein Gemisch aus Detritus und Talg vorliegt.

1.2.3 Stadium IV

Da bei der einfachen Hyperplasie keine Verhornung des Zelltyps 3 vorliegt, zeigt der hyperplastische Azinus die morphologischen und histochemischen Besonderheiten des Zelltyps 4.

Im Gegensatz dazu wird bei den beiden anderen Verlaufsformen der Hyperplasiokarzinogenese der Zelltyp 4 nur sehr selten, und wenn, dann nur vereinzelt gefunden. In diesem Stadium finden sich fast ausnahmslos zystische Erscheinungen ehemaliger hyperplastischer Azini, die aufgrund ihrer Genese als Stadium III oder IV zu bezeichnen sind. Das Lumen ist je nach dem Funktionszustand von noch in der Zyste befindlichen oder mit ihr in Verbindung stehenden Talgzellen weitgehend leer, aber auch mit Talg oder Hornmassen angefüllt.

Aus diesem Stadium, teils auch schon aus dem Stadium III, kann sich jederzeit invasives Wachstum einstellen. Meist entwickeln sich die entstehenden Karzinome im Bereich der Zystenwand und wachsen teils exophytisch, teils endophytisch oder in beide Richtungen.

Abb. 10: Mixed-Type-Karzinom, aus einem hyperplastischen Azinus hervorgehend, mit zum Teil sudan-positiven Zellen (➞) (Vergr. 128-fach).

1.3 Zysten

In manchen Azini des Stadiums III und in solchen, die bereits Stadium IV erreicht haben, ist zentral eine gut abgegrenzte Nekrose unterschiedlicher Ausdehnung zu beobachten. Zu Beginn der Nekrose zeigen sich in manchen Fällen die zentroazinären Zellen am Rande der Nekrose von einer zarten Hornlamelle umhüllt. Den Demarkierungsbereich der Nekrose umgibt ein Entzündungshof, der vorwiegend aus segmentkernigen Leukozyten und Lymphozyten besteht.
Die nekrotischen Massen gewinnen Anschluß an das Ausführungsgangsystem und entleeren sich in dieses. Im Endstadium sind die so entstandenen zystischen Hohlräume entweder leer oder von sudanophilen Massen ausgefüllt, die möglicherweise vom Talg der angrenzenden intakten Talgdrüsen stammen. Gelegentlich treten in den Zysten Aktivitäten verschiedener Enzyme, hauptsächlich solcher der alkalischen Phosphatase auf, die von sich transformierenden Zellen benachbarter Azini herrühren könnten.

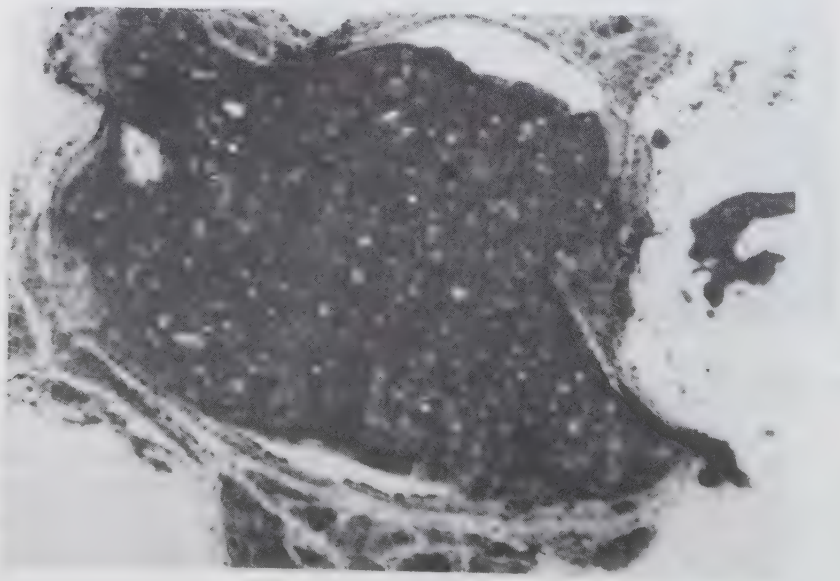


Abb. 11: Zyste mit sudanophilen Massen angefüllt (Vergr. 128-fach)

Die Zysten werden von einer ein- bis zweilagigen Epithellage ausgekleidet. Zum Zysteninneren gelegene Zellen sind abgeflacht und besitzen eine feine Hornlamelle, aber auch granulierte Strukturen wie bei der Keratinisierung der Hautoberfläche sind anzutreffen. An diese Zellen schließt sich zum Zystenlumen die Hornlamelle an, die in den Schnitten deutlich zur Anschauung kommt. Diese epitheliale Auskleidung der Zysten erinnert an eine Metaplasie der Basalzellen, die die Tendenz zur Verhornung in sich tragen und somit diese feine Hornlamelle erzeugen. In solchen Zysten finden sich häufig Hornsubstanzen, die besonders in Kombination mit einer scholligen sudanpositiven Reaktion vorliegen.

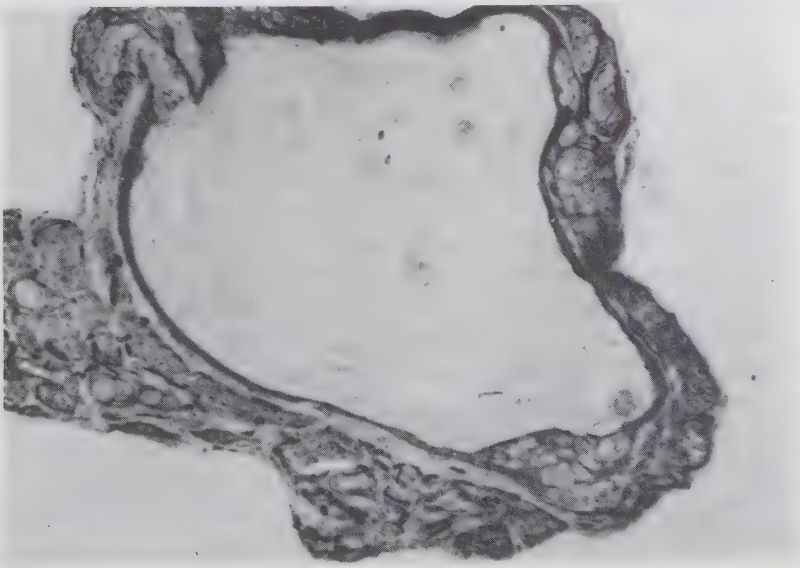


Abb. 12: Von einer feinen Hornlamelle ausgekleidete Zyste, identisch mit Abb. 11 - Hämatoxilin-Eosin-Färbung, (Vergr. 128-fach).

In bestimmten Zystenwänden konnte eine Besonderheit beobachtet werden. An einer oder zwei Stellen der Zystenwand waren Talgzellen zu sehen, die sich weder morphologisch noch histochemisch eindeutig bestimmen ließen. Sie zeigten einen homogenen sudanpositiven Niederschlag. Mit Hilfe von Serienschnitten konnte nachgewiesen werden, daß diese Zellen nicht Teil eines Azinus sind, der der Zystenwand benachbart liegt, auch fehlte ihnen das abgrenzende Bindegewebe, das sie von der Zyste hätte trennen müssen. Diese Zellen waren manchmal transformiert, wonach man sie dem Stadium I zuordnen konnte.
Da der Ursprung dieser Zellen nicht mit Sicherheit festzustellen ist, kommen mehrere Möglichkeiten in Betracht: Es könnte sich zum Beispiel um eine Zelle der Zystenwand handeln, die im Verlauf der Transformation ihre Funktion behielt, oder um Basalzellen, welche sich zu Talgzellen differenziert haben. Auch das Vorliegen eines im zweidimensionalen Bereich tangential angeschnittenen Drüsenazinus käme in Frage.

Die Zystenwand unterliegt den Einflüssen des Gesamtorganismus in Form der zellulären Infiltration, die sich als Entzündungsreaktion manifestiert. Dabei überwiegen vor allem segmentkernige Leukozyten neben Lymphozyten und vereinzelten Plasmazellen. An einigen Stellen zeigt sich, daß diese Reaktion so heftig sein kann, daß die Basalmembran völlig abgebaut wird und die Zystenwand der Nekrose anheimfällt. In der Sudanfärbung stellt sich dieser Bezirk in einer scholligen sudanpositiven Reaktion dar, die kleintropfig über dieses Areal verteilt ist. Das umgebende Bindegewebe ist in diesen Prozeß miteinbezogen. Diese Befunde können als Reaktion des Organismus auf die Zyste gewertet werden, mit dem Ziel, die physiologischen Verhältnisse wiederherzustellen. An kleineren Zysten kann festgestellt werden, daß sie von den Entzündungszellen völlig abgeräumt werden, wohingegen die größeren Zysten nur eine partielle Abtragung erfahren.

Die Zellen der Zystenwand sind jederzeit in der Lage zu entarten und in das Karzinomwachstum überzugehen, das von hier aus seinen Ursprung nimmt. Teils wachsen die Karzinome endophytisch, durchbrechen die Basalmembran und dringen in das umgebende Gewebe vor, teils entwickeln sie sich auch exophytisch. In letz-

terem Fall erstrecken sich die Tumorzapfen in das Zystenlumen hinein und erinnern an das Bild eines papillomatösen Tumors. Zwischen den einzelnen Tumorzapfen können Zellreste, Hornsubstanzen und manchmal auch sudanophile Massen auftreten.

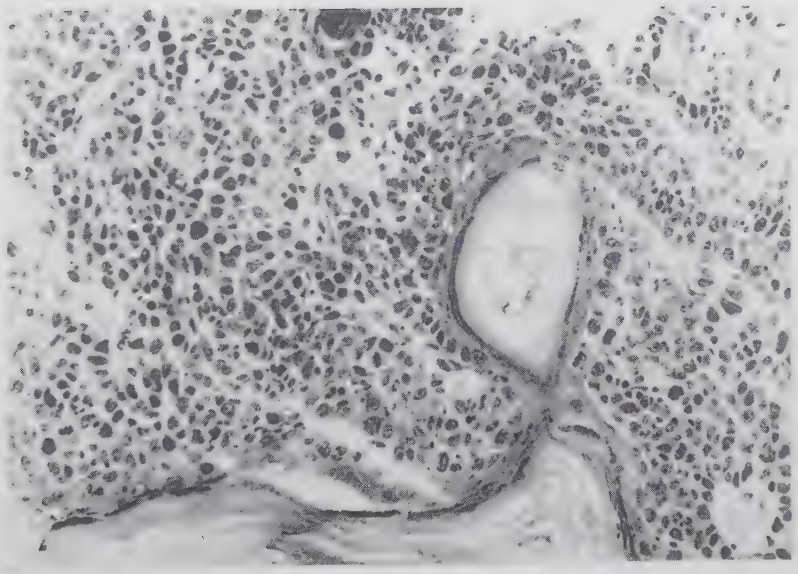


Abb. 13: Mixed-Type-Karzinom, in einer Zystenwand entstanden. Hämatoxilin-Eosin-Färbung (Vergr. 250-fach).

2. Statistische Auswertung

Die Gesamtzahl der untersuchten Tiere beträgt 45. Davon waren bei drei Tieren morphologisch und histochemisch keine pathologischen Befunde zu verzeichnen. Sie entwickelten weder eine Vorstufe eines Karzinoms noch einen Tumor. Von den restlichen Tieren konnten Tumoren, deren Vorstufen oder beides beobachtet werden.
Nach diesen Ergebnissen beträgt in dieser Untersuchung die Tumormanifestation nach Gabe von trans-4-Dimethylaminostilben 93,3 %.

induzierte Veränderung	Anzahl der Tiere
Plattenepithelkarzinom	37
Mixed - Type - Karzinom	10
Undifferenziertes Karzinom	11
Hyperplasiokarzinogenese	12
direkte Karzinogenese	15
keine Veränderungen	3

n = 45 Tiere

Tab. 4: Präneoplastische Veränderungen und Neoplasien in der Ceruminaldrüse der Ratte

Die Gesamtzahl der präneoplastischen und neoplastischen Veränderungen ergibt wegen des gleichzeitigen Vorkommens von Tumoren und deren Vorstufen oder von mehreren Tumoren des gleichen Tieres eine höhere Zahl, als es der Anzahl der untersuchten Tiere entsprechen würde.

Hyperplasiokarzinogenese + Tumor	Hyperplasiokarzinogenese + direkte Karzinogenese + Tumor	Hyperplasiokarzinogenese
9	2	1

n = 12 Tiere

Tab. 5: Hyperplasiokarzinogenese und andere neoplastische Veränderungen

Bei der Untersuchung der Tiere mit Hyperplasiokarzinogenese zeigten sich bei fast allen Tieren neben den Stadien der Hyperplasiokarzinogenese manifeste Tumoren. Lediglich ein Tier wies nur Vorstufen ohne Tumor auf.

Die Aufschlüsselung der präneoplastischen Herde in den 12 Tieren mit Hyperplasiokarzinogenese ergibt sich aus der folgenden Tabelle:

Stadien der Präneoplasien	Sudanpositiv	Sudannegativ
I	14	
II a	7	
II b		13
III		27
IV		14

n = 75 Herde

Tab. 6: Die Stadien der präneoplastischen Herde während der Hyperplasiokarzinogenese

Insgesamt fanden sich bei 12 Tieren, welche der Hyperplasiokarzinogenese unterlagen, 75 präneoplastische Herde. Bei dieser Zahl konnte selbst an Serienschnitten nicht mit Sicherheit untersucht werden, ob es sich jeweils um verschiedene oder nur um einige wenige handelte. Aus der Aufstellung kann ferner entnommen werden, daß nur Herde der Stadien I und IIa eine sudanpositive Reaktion aufweisen.
Von den einzelnen Stadien entfallen über 50 % auf die Stadien IIb und III, wovon das Stadium III etwa ein Drittel ausmacht. Stadium IIa beträgt nur etwa 10 % der gesamten Herde. Diese Tatsache könnte ein Ausdruck für die Kürze dieses Stadiums sein.

Aus der Gesamtheit der untersuchten Tiere entwickelten 35 Tiere zystische Veränderungen, die in sudanpositive und sudannegative eingeteilt wurden.

	Sudanpositiv	Sudannegativ
Tiere mit Zysten	22	13

n = 35 Tiere

Tab. 7: Zystische Veränderungen während der Karzinogenese mit trans-4-Dimethylaminostilben

Etwa bei zwei Drittel der Tiere konnte sudanpositives Material in den Zysten nachgewiesen werden. Dies ist als ein Indiz für eine intakte Talgproduktion zu werten, die noch in einzelnen Zellgruppen innerhalb der Zyste oder in deren unmittelbaren Umgebung stattfindet.
Aus der Form und Größe der Zysten kann man auf deren möglichen Ursprung rückschließen, sei er nun von der Hyperplasiokarzinogenese oder von der direkten Karzinogenese ausgehend. Die große Anzahl der Tiere mit Zysten deutet darauf hin, daß sich im Verlauf der Karzinogenese der Zymbaldrüse der Ratte mehr oder weniger bei allen Tieren zystische Veränderungen ausbilden.

IV DISKUSSION

Die Ceruminaldrüse der Ratte war Gegenstand vielfältiger Untersuchungen über die chemisch induzierte Karzinogenese, die durch verschiedene Karzinogene ausgelöst werden kann. So benutzten PLISS (1973) unter anderem Benzidin, TAWFIC (1965) trans-4-Dimethylaminostilben, HERRMANN (1974) ebenfalls trans-4-Dimethylaminostilben sowie 3,3'-Dichlor-4,4'-diaminodiphenyläther, MILLER und MILLER (1961) verwendeten 3-methoxy-4-aminoazobenzen und SCHARDEIN und KAUMP (1966) tris(p-aminophenyl)Carbonium-Pamoat zur Erzeugung von Gehörgangstumoren. Sämtliche Autoren berichten neben Tumoren oder prätumorösen Veränderungen über die Beobachtung von hyperplastischen Erscheinungen an der Zymbaldrüse.

TAWFIC konnte beobachten, daß sich aus den hyperplastischen Arealen Karzinome entwickeln. SCHARDEIN und KAUMP beschrieben die Entstehung der Tumoren aus adenomatösen Knoten innerhalb eines zystisch dilatierten Anteils eines Lobulus. Auch GUBAREVA und PLISS (1966) und PLISS (1973) kommen in ihren Untersuchungen zu ähnlichen Ergebnissen.
HERRMANN (1974, 1977) untersuchte dieses Phänomen mit enzymhistochemischen und autoradiographischen Methoden. Er schloß aus seinen Befunden, daß zwischen der Neoplasie und der Hyperplasie eine enge Beziehung bestehen muß, da er eine Hyperplasie ohne in Gang befindlicher neoplastischer Veränderung bei der angewandten Dosierung nicht festellen konnte. In präneoplastischen Azini, die einer Hyperplasie unterlagen, war der ^{3}H-Thymidinmarkierungsindex im Gegensatz zu normalen und nicht hyperplastischen präneoplastischen Herden bei den Basalzellen um den Faktor 2 und bei den Suprabasalzellen um den Faktor 3-4 erhöht. Dieser Befund spricht für die Proliferationsaktivität des Azinus und stellt das objektive Korrelat zur histologisch nachweisbaren Hyperplasie dar.
RULON und HELWIG (1973, 1974), welche menschliche Talgdrüsentumoren in Verbindung mit visceralen Karzinomen untersuchten, verneinen zwar eine solche Beziehung und weisen auf den Unterschied zwischen Neoplasie und Hyperplasie hin, doch auch in der vorliegenden Arbeit kann die Tatsache der hyperplastischen Verände-

rungen in präneoplastischen Herden bestätigt werden.

Weitere Indizien für die Feststellung von HERRMANN (1974), das Karzinogen beinhalte neben einer neoplasiogenen Komponente zusätzlich eine hyperplasiogene, liefern die oben angeführten Untersuchungen von TAWFIC, PLISS und SCHARDEIN und KAUMP an der Ceruminaldrüse der Ratte, sowie EVESON und McDONALD (1978), die einen hyperplasiogenen Effekt des Karzinogens Dimethylbenzanthrazen an den Backentaschen des Hamsters beobachteten. Offen bleibt dabei die Frage, ob das Karzinogen unmittelbar einen hyperplasiogenen Effekt auslöst oder ob es seine Wirkung über eine veränderte Zellregulation als Ausdruck einer alterierten Zellbiochemie bezieht.
Außerhalb des Organismus ist die Talgdrüse zum Beispiel in der Lage,Wachstumserscheingen auszulösen, die in Richtung Hyperplasie abzielen. ZYMBAL (1933) zeigte mit seinen Explantationsversuchen, bei denen er Teile der Ceruminaldrüse auf Nährmedien züchtete, die Tendenz der Talgdrüse zur Bildung von hyperplastischen Regeneraten, die eine extreme Proliferation aufweisen.

Unterstützung erfährt die Ansicht, wonach auch chemische Karzinogene eine Hyperplasie über eine Änderung der Zellregulation auslösen könnten,in neuerer Zeit durch biochemische Untersuchungen.
Die Befunde von VORHEES, MARCELLO und DUELL (1975),erhoben an der Haut von Psoriatikern, die eine erhebliche Hyperplasie zeigt, sprechen dafür, daß dem Verhältnis von cycloAMP zu cycloGMP eine entscheidende Rolle in der Regulation der Zellproliferation und -differenzierung zukommt. Senkung von cycloAMP stimuliert die Zellproliferation, während cycloGMP die Mitoserate erhöht.
Zu ähnlichen Resultaten gelangen PETERS und WHITE (1978), die nach Hexadecan-Pinselung der Rattenhaut Hyperplasien auslösen konnten. Sie sind der Meinung, daß cycloAMP die Schlüsselfunktion in der Proliferation der hyperplastischen Haut einnimmt. Nach diesen Ergebnissen würde das Karzinogen nicht direkt eine Stimulation der Zellproliferation hervorrufen, sondern eine solche über eine Veränderung der Zusammensetzung biochemischer Zellbestandteile bewirken, sowie letztlich über eine geänderte Zellregulation.

Betrachtet man nun die Resultate dieser Arbeit zusammen mit den Untersuchungen von HERRMANN, so könnte die Hypothese der geänderten Zellfunktion mit ihrer Rückwirkung auf die Zellregulation an Bedeutung gewinnen. Obwohl eine Hyperplasie nie ohne enzymhistochemisch nachweisbare präneoplastische Veränderungen auftrat, ist jedoch nicht daraus zu folgern, daß die präneoplastische Alteration der Zymbaldrüse eine conditio sine qua non für die Hyperplasie sein muß. Wie HERRMANN (1974) zeigte, sind neoplastische Veränderungen der Zymbaldrüse nicht notwendig an hyperplastische gekoppelt, da sich die direkte Karzinogenese ohne Hyperplasie manifestiert. Die Frage nach der Ursache der Hyperplasieentwicklung während der Karzinogenese kann mit diesen Ergebnissen nicht beantwortet werden. Es könnte sich bei der Hyperplasie sowohl um einen Teil der Karzinogenese handeln als auch um ein eigenständiges Geschehen. Möglicherweise wäre eine Dosisabhängigkeit vom Karzinogen zu diskutieren.

Die enzymhistochemisch nachweisbaren präneoplastischen Veränderungen der Hyperplasiokarzinogenese sind mit jenen der direkten Karzinogenese identisch. Aus den Unterscuhungen von HERRMANN geht hervor, daß beide demselben stadienhaften Ablauf bis zum manifesten Karzinom unterliegen, sie zeigen lediglich in der Ausbildung verschiedener Wachstumsformen Unterschiede. Die enzymhistochemischen Ergebnisse als Ausdruck einer karzinogen induzierten Veränderung der Zellbiochemie erfahren hinsichtlich der Zellfunktion eine Unterstützung durch den Talgnachweis mit Sudan-III. Der normale Zyklus einer Basalzelle in einer Talgdrüse vollzieht sich über eine Differenzierung zur Talgzelle, zur Nekrobiose und holokriner Sekretion. Wird die Funktion einer Talgzelle an der Produktion von Talg während eines Zellzyklus gemessen, so muß diese im Verlauf der Hyperplasiokarzinogenese als gestört bezeichnet werden. Bereits die Zelle, die das späte Stadium IIa erreicht hat, ist in ihrer Leistung erheblich eingeschränkt, kenntlich an der verminderten Anfärbbarkeit der Talgzellen mit Sudan-III in den suprabasalen Anteilen des Azinus. Im Stadium IIb verliert sie die Fähigkeit zur Talgsynthese völlig, die im Laufe der weiteren Kanzerisierung nicht wieder zurückgewonnen wird. Wie es scheint, kann die Zelle durch den

Ausfall bestimmter Enzyme ihrer Funktion nicht länger nachkommen. Sie ist zwar weiterhin lebensfähig, aber nicht mehr imstande, eine hochdifferenzierte Leistung in Form der Talgsynthese zu erbringen.
Die Enzymhistochemie des Stadiums IIb zeigt eine stark ausgeprägte Aktivität der alkalischen Phosphatase, eine Aktivitätsminderung der Lactat-Dehydrogenase und der NADH-Diaphorase.
Im Stadium IIa ist bereits die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase nicht mehr nachweisbar, während die Cytochromoxidase und die Esterasen eine Abschwächung ihrer Aktivität erfahren. Da diese Enzyme mit dem Aufhören der Talgsynthese gleichzeitig ausfallen, könnte ein Zusammenhang zwischen dem Ausfall der Enzymaktivität und dem Sistieren der Talgproduktion bestehen.

Obwohl über die Biochemie der Talgdrüsen, speziell der Zymbaldrüse der Ratte, bisher nur sehr wenig bekannt ist, könnte nach SCHNACKERZ (1979) davon ausgegangen werden, daß sich die Biosynthese der Lipide in der Zymbaldrüse der Ratte nach den gleichen Prinzipien vollzieht wie die Lipidsynthese beim Menschen. Unter diesem Aspekt sind die folgenden Ausführungen zu betrachten, die näher auf die Beziehungen zwischen den Enzymen der Talgzelle und der Biosynthese der Lipide eingehen.
In der Talgzelle ist die normale Funktion der Lipidbildung für die Talgsynthese von entscheidender Bedeutung, da Talg nach Untersuchungen von WHEATLEY(1957, 1959) ein komplexes Gemisch verschiedener Lipide darstellt. Demnach setzt sich der Talg der Ratte hauptsächlich aus Wachsestern, Sterinen und in geringen Mengen aus Triglyceriden zusammen. Als Wachsester werden Ester von langkettigen Alkoholen mit höheren Fettsäuren bezeichnet. Die langkettigen Alkohole werden häufig aus Acyl-CoA-Derivaten gebildet.
Zentrale Funktion in der Biochemie der Lipidsynthese nimmt das Acetyl-CoA ein, welches als Produkt der aeroben Glykolyse sowohl für den Aufbau der Fettsäuren wie auch zur Synthese der Sterine als Ausgangssubstanz benötigt wird. Zur Fettsäurebildung wird das Acetyl-CoA am Fettsäuresynthetase-Multienzymkomplex zunächst carboxyliert, aus dem in mehreren Syntheseschritten die Fettsäure aufgebaut wird. Bei der Synthese des Steringrundgerüstes wird ß-Hydroxy-ß-methyl-glutaryl-CoA aus drei Molekülen

Acetyl-CoA hergestellt und dann zu Mevalonsäure reduziert. Diese wird unter ATP-Verbrauch über 5-Phosphomevalonsäure und Mevalonsäurepyrophosphat zu Isopentenylpyrophosphat, dem "aktiven Isopren", phosphoryliert, welches über weitere Reaktionsschritte in das Squalen, das Grundgerüst der Sterine, übergeht. Bei folgenden Reaktionswegen ist ATP notwendig:

1. bei der Fettsäurebildung ist der Schritt von Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA ATP-abhängig,
2. verbraucht die Phosphorylierung des "aktiven Isoprens" während der Sterinsynthese ATP.

Die Energie zur Lipidsynthese in Form des Adenosintriphosphats entstammt der oxydativen Phosphorylierung der Atmungskette, welche eng mit dem Zitronensäurezyklus in Verbindung steht. Als Schlüsselenzym der Atmungskette zur Gewinnung von chemisch gebundener Energie in Form von ATP hat dabei die Cytochromoxidase zentrale Funktion.
Neben Acetyl-CoA und Adenosintriphosphat ist das NADPH eine wichtige Voraussetzung sowohl zum Fettsäure- wie auch zum Sterinaufbau. NADPH-abhängig sind während der Sterinsynthese die Reduktion von ß-Hydroxy-ß-methylglutaryl-CoA zu Mevalonsäure und die Bildung des Squalens. Die Fettsäuresynthese benutzt NADPH als Reduktionsmittel. Das benötigte NADPH wird vom Pentosephosphatzyklus bereitgestellt, in welchem über die oxydative Glykolyse einerseits Pentosen für die Nucleinsäuresynthese zur Verfügung gestellt werden, andererseits NADPH für die Lipidsynthese. Damit vor allem NADPH synthetisiert wird, ist die Aktivität der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, die als Starterenzym des Pentosephosphatzyklus gilt, für den Aufbau der Fettsäuren von entscheidender Bedeutung. Aus den höheren Fettsäuren erfolgt zur Wachsesterbildung eine Veresterung mit Acyl-CoA-Derivaten, welche bei der hydrolytischen Spaltung mittels Esterasen aus Phospholipiden oder Triglyceriden hervorgehen. Solche Esterbindungspaltenden Hydrolasen sind beispielsweise die 5-Bromindoxylacetatesterase und die α - Naphtylacetatesterase.
In diesem Zusammenhang sind hinsichtlich der Talgproduktion Experimente von GRIGOR (1976) bedeutungsvoll, der den talgproduzierenden Tumor ESR-586 der Präputialdrüse der Maus untersuchte.

In älteren Tumoren stellte er einen Anstieg der Wachsesterfraktion fest, während gleichzeitig die Fettalkohole und Phospholipide abnahmen. Die Fettalkohole werden in den Tumoren durch die Reduktion von Fettacyl-CoA durch NADPH-verbundene Enzyme gebildet. Die Wachsester baut eine mikrosomale Acyltransferase auf, wobei Fettacyl-CoA der Acyldonator ist. Zu ähnlichen Feststellungen gelangen DOWNING und Mitarbeiter (1977) bei Untersuchungen des Stoffwechsels von menschlichen Talgdrüsen mit markiertem C^{14}-Acetat. Sie sind der Meinung, daß das Material zur Wachsestersynthese von freien Fettsäuren stammen könnte, die beim Abbau von Phospholipiden freigesetzt werden.
Als Syntheseort der Triglyceride aus Phospholipiden wird in neuerer Zeit die Mikrosomenfraktion des endoplasmatischen Retikulums angesehen. BELL (1974) beobachtete in elektronenoptischen Untersuchungen der Talgzellen des Hamsters eine Anhäufung von endoplasmatischem Retikulum in differenzierten Zellen und deutete diesen Befund als eine Verbindung zwischen Triglyceridsynthese und endoplasmatischem Retikulum. Zur gleichen Aussage gelangte NIIZUMA (1977), der aufgrund seiner Studien an Karzinomen der Meibom'schen Drüsen des Menschen die Mikrosomen des endoplasmatischen Retikulums als Syntheseort der Triglyceride aus Phospholipiden angibt. In seinen theoretischen Ausführungen macht er den Ausfall der Glucose-6-Phosphatase für das Aufhören der Lipidsynthese und für die Anhäufung von Glykogen in der Zelle verantwortlich. Nach den vorliegenden Befunden ist hier eher der Aktivitätsverlust der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase für das Sistieren der Lipidsynthese maßgebend, gleichwohl die Glykogenspeicherung durch einen Ausfall der Glucose-6-Phosphatase verursacht sein mag, wie dies auch BANNASCH und MÜLLER (1964) an der Hepatomzelle der Ratte beschrieben.

Das geordnete Zusammenspiel sämtlicher biochemischer Abläufe, welche die Lipidsynthese beeinflussen und ermöglichen, setzt aber eine normale Zellbiochemie voraus. Fallen jedoch Enzyme oder Enzymgruppen der an der Talgsynthese beteiligten Systeme aus, oder sind sie in ihrer Aktivität gemindert, so dürfte die Funktion der Zelle gestört sein. Werden die Aktivitätsausfälle der Enzyme in den einzelnen Stadien der Hyperplasiokarzinogenese beobachtet und mit der Funktion der Zelle, gemessen an der Talg-

produktion, verglichen, so ergeben die Befunde ein einheitliches Bild, welches den Ausfall der Zelleistung zu erklären vermag.

Im Stadium IIa sind neben der Aktivitätsminderung von Cytochromoxidase, 5-Bromindoxylacetatesterase und α-Naphtylacetatesterase ein Aktivitätsverlust der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase zusammen mit einer Reduzierung der Anfärbbarkeit von sudanophiler Substanz nachzuweisen. Dabei stellt die Cytochromoxidase ein Schlüsselenzym bei der oxydativen Phosphorylierung der Atmungskette dar.Es kann sich durch den Ausfall dieser Enzymgruppe eine gedrosselte Bereitstellung von Adenosintriphosphat für die Fettsäure- und Sterinsynthese einstellen. Ferner kommt es zu einem Aktivitätsverlust der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, die Starterenzym für den oxydativen Abbau der Glucose im Pentosephosphatzyklus ist und bei Vorhandensein zur Bereitstellung von NADPH für die Lipidsynthese sorgt. Möglicherweise manifestiert der Ausfall oder die Verminderung von NADPH im Zusammenhang mit der Aktivitätseinschränkung anderer Enzyme und ihrer Folgeerscheinungen das entscheidende Kriterium für die Einstellung der Lipidsynthese, die im Stadium IIb zum völligen Erliegen kommt. In diesem Stadium korreliert die Aktivitätsabnahme der Lactat-Dehydrogenase, der NADPH-Dehydrogenase und die der NADH-Diaphorase, welche zu den Enzymen der Atmungskette zu zählen ist, mit dem Ausfall der Sudan-III-Reaktion

Verlieren die Enzyme ihre Aktivität und wird das steady state der einzelnen enzymatischen Reaktionen verändert, bleibt eine normale Zellfunktion aus. Folge dieser Störung ist ein Zusammenbruch der spezifischen Zelleistung, im Falle der Talgzelle die Talgproduktion. Durch die enzymhistochemischen Befunde und das Ergebnis der Sudanfärbung läßt sich nachweisen, daß die Talgsynthese eng mit dem Ausfall bestimmter, für die Lipidsynthese elementar wichtiger Enzyme gekoppelt sein muß und ohne diese Enzyme eine spezifische Zelleistung, wie sie für die Talgzelle adäquat wäre, nicht mehr stattfinden kann. Die karzinogene Alteration der Talgzelle bedingt somit im Stadium IIb durch Eingriffe in biochemische Regulationsvorgänge der Talgzelle einen Ausfall der Zellspezifität.

Über die Zusammensetzung der Fette während der Karzinogenese kann mit der vorliegenden Versuchsanordnung keine Aussage gemacht werden, obwohl denkbar wäre, daß sich im Verlauf der Hyperplasiokarzinogenese die qualitative und quantitative Zusammensetzung des Talges ändern könnte. Zeigte sich bei der Untersuchung der Talgproduktion in den einzelnen Stadien eine Veränderung derselben in quantitativer Hinsicht, so läßt sich mit dieser Methode keine qualitative Analyse erreichen. Ausgehend von einer normalen Zusammensetzung des Talges in einer intakten Drüse, wäre die Möglichkeit einer qualitativen Änderung der einzelnen Lipidkomponenten des Talges in einer kanzerisierten Drüse naheliegend, da sich die enzymatische Konstellation der Zelle während der Karzinogenese verändert und eine alterierte Zellfunktion bewirkt.

Während die Bestandteile des Talges der Hautoberfläche des Menschen und auch von einigen Laboratoriumstieren gut untersucht worden sind, so von WHEATLEY und JAMES (1957),WHEATLEY (1976, 1959), NIKKARI und Mitarb. (1970), NIKKARI (1974)und MATSUO und OHKIDO (1976), wird über die Analyse des Talges isolierter Talgdrüsen kaum etwas berichtet. Dieses Phänomen ist vor allem in der Schwierigkeit der Talggewinnung, wie EBLING (1974) ausführte, begründet, da das Lipid, welches von der Hautoberfläche gesammelt wird, jeweils auch Talgsubstanzen epidermalen Ursprungs beinhaltet. Ferner erfährt die Untersuchung der Talgzusammensetzung durch die angewandte Methode eine Beeinflussung. MATSUO und OHKIDO wiesen 1976 auf die methodologischen Unterschiede einzelner Talgsammlungs- und Analyseverfahren hin, welche zu differierenden Ergebnissen führen können.

Nicht zuletzt sind in diesem Zusammenhang wechselnde hormonelle Einflüsse auf die Talgzellfunktion von Bedeutung, die allerdings in der vorliegenden Versuchsanordnung keine Rolle spielen. EBLING und Mitarbeiter (1975) berichteten über eine Steigerung der Talgsekretion bei hypophysektomierten Ratten nach Testosterongabe. LUDERSCHMITT und PLEWIG (1977) wiesen an den Gehörgangstalgdrüsen des syrischen Hamsters nach, daß sich nach Applikation des Antiandrogens Cyproteronacetat die Mitoserate und die Größe der Talgzellen vermindert.

BELL (1974) konnte den Einfluß der Androgene auf die Ultrastruktur der Talgzelle des Hamsters aufzeigen. Nach Zufuhr von Androgenen zeigten auch die Talgzellen weiblicher Tiere, die normalerweise klein sind, das Aussehen von Talgzellen männlicher Tiere mit reichlich agranulärem Retikulum und zahlreichen Ribosomen, wobei bereits differenzierte Zellen unbeeinflußt blieben.

Die Beziehung zwischen Talgdrüse und endoplasmatischem Retikulum wird aus den strukturellen Besonderheiten abgeleitet. NIIZUMA (1977) konnte dies bei der Untersuchung von Lipidtropfen in Talgkarzinomen Meibomscher Drüsen des Menschen bestätigen. Die untersuchten Fettropfen boten elektronenoptisch ein homogenes Zentrum, um das sich lamelläre Strukturen gruppierten, welche er als Derivate des endoplasmatischen Retikulums auf der Transformation zu Triglyceriden auffaßte. Nach den Experimenten von GRIGOR (1976), der veränderte Lipidzusammensetzungen während des Tumorwachstums beobachtete, rufen metabolische Veränderungen in der Zelle während des Tumorwachstums eine geänderte qualitative Zusammensetzung des Talges hervor.
Daraus kann der Schluß gezogen werden, daß auch für die mit trans-4-Dimethylaminostilben kanzerisierte Talgzelle eine Veränderung in der Talgzusammensetzung während der Hyperplasiokarzinogenese gesichert ist.

Bei der Untersuchung der Hyperplasiokarzinogenese fiel eine ausgeprägte zystische Veränderung der hyperplastischen Azini ab Stadium III auf. Fast sämtliche Azini, welche das Stadium III erreicht hatten, zeigten Ansätze zur Zystenbildung. Das entscheidende histologische Korrelat dazu stellen die Talgzellnekrose in den zentralen Anteilen des hyperplastischen Azinus und die Stadium III-Zellen in den Azini, welche einer verzögerten Proliferation unterliegen.

HERRMANN verweist auf die gestörte Ernährung der zentralen Zellen, die per diffusionem von der Basalmembran aus erfolgt. Die Hyperplasiokarzinogenese führt über eine Verhornung suprabasaler Stadium III-Zellen zum Zelltod der zentroazinären Zellen.

TOSTI (1974) beschreibt die Selbstregulation der Gewebekinetik innerhalb eines Azinus als Resultat der Zu- oder Abnahme der intraazinären Spannung während des Wachstums. Seine Ausführungen bezeichnen einen Druck in der Peripherie des Azinus, dessen vektorielle Größe zentripetal gerichtet ist und die reifen Talgzellen in den Ductulus treibt. Nach diesem Prinzip dürfte auch der Kaudruck des Unterkiefers zur Austreibung von Talgsubstanz wirken.

In der vorliegenden Untersuchung zeigten sich häufig in der Umgebung von hyperplastischen Arealen abgeplattete und von der Hyperplasie zusammengequetschte Azini, welche auf einen von der Hyperplasie ausgehenden Druck hindeuten. Nach physikalischen Gesetzen wirkt der Druck im selben Maße in zentroazinärer Richtung, wie er nach außen zu beobachten ist. Aus diesen Befunden darf geschlossen werden, daß in hyperplastischen Azini neben der durch die Verhornung bedingten Diffusionsstörung der Druck in zentropetaler Richtung die Talgzellnekrose als zweiter pathogenetischer Faktor beeinflußt und für die Zystenbildung an Bedeutung gewinnt.

Für die Ursache des Zelldrucks könnte eine verminderte Abwanderungsgeschwindigkeit via Ductus angeführt werden, die zu einem Zellstau führen könnte. Wahrscheinlicher ist eine Erhöhung der Zellzahl infolge einer vermehrten Zellneubildung. HERRMANN (1973, 1974, 1977) gibt den ^{3}H-Thymidinmarkierungsindex im hyperplastischen Azinus mit 12,4 % an, eine Verdoppelung gegenüber der normalen Zymbaldrüse mit 5,3 %. Die Suprabasalzellen weisen einen Markierungsindex auf, der um den Faktor drei bis vier höher liegt als bei der normalen Drüse.
ÖHLERT (1969) sieht in der Zellneubildung, die durch hyperplasiogene oder karzinogene Substanzen erfolgte, ein entscheidendes Kriterium für die Ursache der Hyperplasie. Nach seinen Ausführungen ist eine geänderte Zellteilungsrichtung horizontal zur Basalmembran verantwortlich für die Vergrößerung der Auflagefläche für die vermehrten Basalzellen. Diese Vergrößerung der Basalmembran ist erkennbar an Auffaltungen derselben, wie es hier am Beispiel der intraazinär wachsenden Hyperplasie beobachtet wurde. Es liegt eine erhebliche Steigerung der Proliferation des

hyperplastischen Azinus vor, die im Hinblick auf die Zystengenese zu Differenzierungsstörungen der einzelnen Zelle führen könnte. Die Metaplasie der Basalzellen mit der Tendenz zur Verhornung ist nach HERRMANN (1974) der Grund für die Diffusionsstörung mit nachfolgender Nekrose der zentroazinären Zellen. Eine Verlängerung des Diffusionsweges von der Basalmembran zu den zentroazinären Zellen wäre im Sinne einer Diffusionsstörung im hyperplastischen Azinus noch unter die möglichen pathogenetischen Faktoren der Zystengenese einzureihen..

Im Verlauf der Zystenbildung wird die Basalzellschicht zunehmend metaplastisch, die nekrotischen Massen werden in den Ductulus abtransportiert, und es resultiert eine Zyste, deren Wand von einer ein- bis zweilagigen epithelialen Zellschicht gebildet wird. Die zum Zysteninneren gelegenen Zellen verhornen, so daß das Zystenlumen von einer feinen Hornlamelle ausgekleidet ist.

Von mehreren Autoren wird auf die Möglichkeit der Verhornung von Talgzellen hingewiesen. MONTAGNA und Mitarbeiter (1952) betonen die Fähigkeit der Talgzellen, sich in hornproduzierende Zellen umzuwandeln. Ihre Versuche an haarlosen Mäusen, die im Alter von 20 Tagen die Haare verlieren und im zweiten Monat des Haarverlustes zahlreiche Zysten entwickeln, zeigen die Zystenentstehung auf, wobei die Zysten, unabhängig von ihrem Ursprung, zuerst einer Talgtransformation und später einer Talgdegeneration unterliegen. Die peripheren Zellen der Zysten produzieren konzentrisch verhornende Deckzellen,und in den reifen Zysten sammelt sich eine Mischung aus Hornabschilferungen und Fettsubstanzen an. Die Autoren gehen von der Tatsache der bimodal differenzierenden Möglichkeiten der epithelialen Zelle aus, wie es MONTAGNA (1974) formulierte, welche die Talgzelle befähigt, sich in eine hornproduzierende Zelle zu differenzieren.

Die Bimodalität der epithelialen Zellen kann auch im Verlauf der Hyperplasiokarzinogenese beobachtet werden, wo sie besonders bei den Zellen des Mixed-Type-Karzinoms sichtbar wird. Auch in den Zysten findet dieses Phänomen seine Bestätigung, da die Zystenwand der Hyperplasiokarzinogenese aus ein- bis

zweischichtigem Plattenepithel besteht, wobei die lumenseitigen Zellen ebenfalls konzentrisch verhornende Deckzellen ausbilden, die später die lamelläre Auskleidung der Zysten bewirken.
Da aber bereits vor der Zystenentstehung die Zellen des Stadiums III eine konzentrische Verhornung der Zellen zeigen, muß diese Hornbildung der Zelle nach HERRMANN als aktive Zellleistung betrachtet werden. Es ergibt sich die Tatsache, daß sich hier ein Funktionswandel einer epithelialen Zelle durch die Karzinogenese vollzieht, da aus einer funktionierenden Talgzelle eine hornproduzierende Zelle hervorgeht.

In der Struktur der Verhornung zeigt sich ähnlich dem Epithel der Hautoberfläche ein Vorkommen von granulierten Zellen. Diese Erscheinung wurde nicht an Zysten verfolgt, welche ihren Ausgang von der Haarwurzelscheide nehmen, wie PINKUS (1969) und HOLMES (1968) feststellen konnten. Während PINKUS (1969) und HOLMES (1968) im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit kein Keratohyalin beim Verhornungsprozeß der Zysten beobachteten, stießen OLMOS und Mitarbeiter (1974) bei elektronenoptischen Untersuchungen an Zysten der menschlichen Haarfollikel, welche bis dato kein Keratohyalin zu enthalten schienen, in manchen Zellen dieser Zysten auf die Anwesenheit von Keratohyalinkörnern. Die Autoren sind jedoch der Meinung, daß sich die Tendenz der Zysten, verschiedenartig zu keratinisieren, nicht allein von ihrem ursprünglichen Epithel ableiten läßt, sondern vielleicht auch aus der Entwicklungszeit oder der Lokalisation. PINKUS (1969) konstatiert, daß die Abwesenheit von Granula für die Talgdrüse sogar in pathologischen Zuständen, in denen die Drüse beachtenswerten Graden der Verhornung unterliegt, charakteristisch wäre. Die Fettsubstanzen, welche sich in den Zysten ansammeln, würden aus verhornenden epithelialen Zellen stammen, die Zusammensetzung der Lipide sei aber von denjenigen in Talgzellen verschieden. HOLMES (1968) diskutiert die fettige Degeneration entweder als eine sekundäre Veränderung oder eine angeborene Eigenart dieser Zysten.

Die Ansichten von PINKUS (1969) und HOLMES (1968), die Fettsubstanzen in den Zysten würden bei der Verhornung der Zellen freigesetzt, dürften für die Zysten der vorliegenden Arbeit nur zum Teil zutreffen. Es wurde eine schollige sudanpositive Reaktion im Nekrosegebiet beobachtet, die über eine fettige Degeneration entstanden sein könnte. Es trat jedoch auch eine sudanophile Reaktion in Kombination mit Hornsubstanzen in den Zystenlumina auf, wobei die Zysten manchmal nur mit einem homogenen orangeroten Reaktionsniederschlag ausgefüllt waren. Da in diesen Zysten gleichzeitig Enzymaktivitäten, besonders der alkalischen Phosphatase, der Esterasen und der Lactatdehydrogenase nachweisbar waren, wären mehrere Ursprungsorte für diese Fettsubstanzen zu diskutieren.
Sie könnten einmal aus den angrenzenden Drüsenazini stammen sowie aus hochdifferenzierten Zellen des Stadiums I - IIa desselben Azinus..

Bei einigen Zysten wurde in der Zystenwand das Vorhandensein von Talgzellen festgestellt. Diese Zellen waren zum Teil zum Stadium I transformiert, was als Hinweis auf den Talgzellenursprung gewertet werden kann. Die Frage, ob diese Zellen noch Relikte des einstigen hyperplastischen Azinus darstellen oder ob sie von der Basalmembran der Zyste differenziert sind, muß unbeantwortet bleiben.
Ähnliche Beobachtungen teilte KLIGMAN (1964) mit, der Talgzellen in der Zystenwand menschlicher Haarfollikel, die aus Hornschichten bestand, finden konnte. Nach seiner Ansicht sind diese Talgzysten lediglich Variationen der Hornzysten, da niemals Talgzellen, sondern nur verhornende Epithelien die Zysten auskleiden, obwohl auch er talgähnliche Substanzen im Zysteninnern fand. Seiner Ansicht stimmten PINKUS (1969) und HOLMES (1968) zu.
Betrachtet man die Zellart, welche das Zystenlumen bildet, als maßgeblich für die Benennung der Zysten, so müssen auch die Zysten, die über eine Hyperplasiokarzinogenese entstanden sind, als Hornzysten angesprochen werden, obwohl sie eindeutig sebacären Ursprungs sind.

Das invasive Wachstum kann jederzeit vom Stadium IV, und als solches sind nach HERRMANN (1974) Zysten zu bezeichnen, die über eine Talgzellnekrose eines hyperplastischen Azinus entstanden sind, ausgehen, und teils papillomatös in das Lumen vorwachsen, aber auch die Basalmembran durchbrechen und in die umgebende Gewebestruktur eindringen. Dabei wird eine mehr oder weniger deutliche Entzündungsreaktion aus Lymphozyten und Plasmazellen in dem die Zysten umgebenden Bindegewebe sichtbar, oft sogar ohne nachweisbares Tumorwachstum.
Im Bereich der Talgzellnekrose kann ebenfalls eine schwache Infiltration von Entzündungszellen, speziell Leukozyten, beobachtet werden. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase ist in diesen Arealen stark erhöht, ein Ausdruck der leukozytären Einwanderung, welche - wie HERRMANN (1974) ausführte - eine gesteigerte Aktivität zur Folge hat. Diese Zellinfiltration dürfte dem Zweck der Wiederherstellung homoiostatischer Zustände im Organismus dienen, da kleinere Zysten eine völlige Abräumung erfahren können; mit größeren Zysten scheint diese Abwehrreaktion nicht fertig zu werden.
HERRMANN (1974) und TAWFIC (1965) beschrieben Entzündungsinfiltrationen in der Umgebung von Tumoren der Zymbaldrüse. Im entzündlichen Infiltrat fand HERRMANN hauptsächlich Lymphozyten und Plasmazellen, wobei eine starke, von den Plasmazellen stammende ATP-ase-Aktivität nachweisbar war, bei gleichzeitigem Aktivitätsausfall der alkalischen Phosphatase. Er führte diese Veränderungen auf mögliche immunologische Vorgänge zurück, welche bei der Infiltration eine Rolle spielen könnten.

Die Manifestationsrate der präneoplastischen und neoplastischen Veränderungen, durch das Karzinogen trans-4-Dimethylaminostilben herbeigeführt, beträgt in der vorliegenden Untersuchung 93,3 %. HERRMANN (1974) beschreibt eine Tumorausbeute von nahezu 100 %, und TAWFIC (1965) konnte an Donryu-Ratten bei einer Gesamtdosis von 120 mg trans-4-Dimethylaminostilben im 15. Monat nach Kanzerisierung eine Rate von 90 % beobachten. SCHMÄHL und THOMAS (1965) berichteten über eine dosisabhängige Tumorausbeute von 100 % und 75 % an Albino-Ratten eines Inzuchtstammes bei einer mittleren Gesamtdosis von 405 $\pm$ 77 mg/kg, bzw. 383 $\pm$ 45 mg/kg.

BALDWIN und Mitarb. (1968) erreichten 95 % und 88 % Tumoren an Wistarratten bei der Gabe von N-Hydroxyacetamidostilben bzw. 4-acetamidostilben, beides Stoffwechselprodukte des trans-4-Dimethylaminostilben. Bei anderen chemischen Karzinogenen liegt die Tumorinzidenz etwas niedriger. An Holtzmann-Ratten erzielten SCHARDEIN und KAUMP (1966) mit Tris (p-aminophenyl) Carbonium Pamoat zwischen 17 % und 57 % Tumoren, GUBAREVA und PLISS (1966) mit ortho-Tolidin 40 % und mit 3,3'-Dichlorbenzidin 32,8 % Tumoren der Zymbaldrüse.
Nach diesen Ergebnissen erscheint die Tumorausbeute einerseits abhängig vom verabreichten Karzinogen und zum anderen von der Dosis und der Induktionszeit.

Bei etwa einem Viertel der Tiere entwickelte sich eine Hyperplasiokarzinogenese neben anderen präneoplastischen Veränderungen und Tumoren. Die Verteilung der einzelnen Stadien während der Hyperplasiokarzinogenese zeigt ein Überwiegen des Stadiums IIb und ein Minimum des Stadiums IIa. Die Dauer des Stadiums IIb gibt HERRMANN (1979) mit Tagen bis mehreren Monaten an. Das Stadium IIb beobachtete er, wie auch in der vorliegenden Untersuchung zweimal häufiger als das Stadium IIa, welches möglicherweise kürzer als einen Zellzyklus lang bestehen soll. Dessen Dauer errechnete BERTALANFFY (1957) nach Versuchen mittels der Colchicin-Technik und bezifferte sie mit etwa acht Tagen.

Die Anzahl der zystischen Veränderungen, etwa zwei Drittel der untersuchten Tiere wiesen Zysten auf, mag auf die starke Zystenbildung bei der chemisch induzierten Karzinogense hindeuten. SCHARDEIN und KAUMP (1966) beobachteten eine Zunahme der zystischen Dilatation der Ductuli, aber auch reiner Zysten, mit ansteigendem Alter der Ratten, welche durch Tris (p-aminophenyl) Carbonium Pamoat noch akzentuiert wurde.
In der vorliegenden Untersuchung dürfte die Zystenbildung jedoch weniger eine Frage des Alters als des spezifischen Funktionswandels der Talgzelle sein. Die hohe Zahl der sudanpositiven, also talghaltigen Zysten ist ein Zeichen der Funktion des umliegenden Drüsenparenchyms bei etwa der Hälfte der untersuchten Tiere. Ein Hinweis auf die Entstehungsart der Zysten läßt

sich allerdings mit der Einteilung in sudanpositive und sudannegative Zysten nicht gewinnen, da eine mit Talg gefüllte Zyste auch über einen anderen Mechanismus als über den der Hyperplasiokarzinogenese entstanden sein könnte. Die Größe der Zyste läßt einen Schluß auf den Ursprung zu, da größere Zysten nur über eine Hyperplasiokarzinogenese entstehen.

V ZUSAMMENFASSUNG

An der mit trans-4-Dimethylaminostilben kanzerisierten Zymbaldrüse der Ratte werden präneoplastische Veränderungen der Hyperplasiokarzinogenese untersucht und die Funktion der Talgzellen während der Kanzerisierung beobachtet.

1. Die Funktion der Talgzellen wird in den einzelnen Stadien der Hyperplasiokarzinogenese mit Hilfe der Sudan-III-Färbung nachgewiesen.

2. Im Stadium IIa ist die Talgproduktion rückläufig und im Stadium IIb nicht mehr nachweisbar.

3. Der Verlust der spezifischen Leistung der Talgzelle wird mit dem Ausfall der für die Talgsynthese wichtigen Enzyme wie Cytochromoxidase, NADH-Diaphorase und den Esterasen erklärt.

4. Eine Änderung der Talgzusammensetzung während der Hyperplasiokarzinogenese wird als gesichert angenommen.

5. Die Zystenentstehung wird als eine Folge der Verhornung zentroazinärer Zellen mit nachfolgender Nekrose beschrieben.

6. Die Zysten sind von einer feinen Hornlamelle ausgekleidet und enthalten Talg oder eine Kombination von Talg- und Hornsubstanzen.

7. Der Talg in den Zysten stammt entweder von angrenzenden Drüsenazini oder von den differenzierten Zellen desselben Azinus.

8. Im Bereich der Zystenumgebung tritt häufig eine entzündliche Reaktion auf, wobei Plasmazellen und Lymphozyten vorherrschen.

9. Die Tumormanifestation der mit trans-4-Dimethylaminostilbenkanzerisierten Ratten liegt bei 93 %; 90 % der Tiere, die der Hyperplasiokarzinogenese unterlagen, entwickelten Zysten.

VI LITERATURVERZEICHNIS

ARMUTH, V., BERENBLUM, I.
Promotion of Mammary Carcinogenesis and Leukemogenic Action by Phorbol in Virgin Female Wistar Rats
Cancer Res. 34, 2704 - 2707, 1974

BALDWIN, R.W., SMITH, W.R.D., CUNNINGHAM, G.J., SURTEES, S.J.
Carcinogenic Action of 4-Acetamidostilbene and the N-hydroxy Derivate in the rat
Brit.J. Cancer 22, 133, 1968

BANNASCH, P., MÜLLER, H.A.
Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Wirkung von N-Nitrosomorpholin auf die Leber von Ratte und Maus
Arzneimittelforschung 14, 805 - 814, 1964

BANNASCH, P., ZUR HAUSEN, H.
Zelluläre und molekulare Aspekte der Krebsentstehung
Therapeutische Berichte, Herausgeg. von Bayer-Leverkusen 43, Jahrg. 1971

BELL, M.
Effect of Androgen on the Ultrastructure of the Sebaceous Gland in two Species
J. Invest. Dermatol. 62, 202 - 210, 1974

BERENBLUM, I.
The Mechanism of Carcinogenesis
A Study of the Significence of Cocarcinogenic Action and Related Phenomena
Cancer Res. 1, 807 - 814, 1941

BERENBLUM, I.
The Two-Stage Mechanism of Cocarcinogenesis as an Analytic Tool
In: Cellular control mechanisms and cancer,
ed. by EMMELOT, P. and MÜHLBOCK, O., p. 259-267, Amsterdam/ Elsevier 1964

BERTALANFFY, F.D.
Mitotic Activity and Renewal Rate of Sebaceous Gland Cells in the Rat
Anat. Rec. 231 - 241, 1957

DOWNING, D.T., STRAUSS, I.S., NORTON, L.A., POCHI, P.E., STEWART, M.E.
The time course of Lipid Formation in human sebaceous glands
J. Invest. Dermatol. 69, 407 - 412, 1977

EBLING, F.J.
Hormonal Control and Methods of Measuring Sebaceous Gland Activity
J. Invest. Dermatol. 62, 161 - 171, 1974

EBLING, F.J., EBLING, E., RANDALL, V., SKINNER, J.
The sebotrophic Action of Growth Hormone in the Rat
Brit. J. Dermatol. 92, 325 - 332, 1975

EVESON, I.W., McDONALD, D.G.
Quantitative histological changes during early experimental carcinogenesis in the hamster cheek pouch
Brit.J. of Dermatol. 98, 639 - 644, 1978

FARBER, E.
Biochemistry of carcinogenesis
Cancer Res. 28, 1859 - 1869, 1968

GRIGOR, M.R.
The Age-Related Occurence of Wax-Esters in the Mouse Preputial Gland tumor
Biochem. Biophys. Acta 431 (1), 157 - 164, 1976

GUBAREVA, A.V., PLISS, G.B.
On the Morphology and Histogenesis of Experimental Zymbals Tumor in Rat
Vop. Onkol. 12, 69 - 76, 1966

HECKER, E.
Biochemische und molekularbiologische Probleme der Tumorgenese
Arzneimittelforschung 18, 978 - 989, 1968

HERRMANN, I.F., SCHAUER, A.
Histochemical and Autoradiographic Studies on Cell Transformation induced by trans-4-Dimethylaminostilbene in the Ceruminal Gland of Rats
2. Europäischer Krebskongreß, Heidelberg, 1973

HERRMANN, I.F.
Frühveränderungen der Karzinogenese im oberen Respirationstrakt und am äußeren Gehörgang mit seinen Anhangsgebilden
Habilitationsschrift, München, 1974

HERRMANN, I.F.
Die chemisch induzierte Karzinogenese am Beispiel der Ratten-Ceruminaldrüse
Berichte der Physikalisch-Medizinischen Gesellschaft zu Würzburg 85, 37 - 50, 1977

HERRMANN, I.F.
Persönliche Mitteilung, 1979

HOLMES, E.I.
Tumors of Lower Hair Sheath
Common Histogenesis of Certain So-called "Sebaceous Cysts", Acanthomas and "Sebaceous Carcinomas"
Cancer 21, 234 - 254, 1968

HOLT, S.I., WITHERS, R.F.I.
Cytochemical Localization of Esterase Using Indoxyl-derivates
Nature 170, 1012, 1952

KARLSON, P.
Lehrbuch der Biochemie
Thieme Verlag Stuttgart, 8. Aufl., 1972

KAUFMANN, C., LEHMANN, E.
Kritische Untersuchungen über die Spezifitätsbreite histochemischer Fettdifferenzierungsmethoden
Zentralblatt für Allg. Pathol. Bd. 37, 145 - 152

KAUFMANN, C., LEHMANN, E.
Sind die in der histologischen Technik gebräuchlichen Fettdifferenzierungsmethoden spezifisch?
Virchow Archiv Bd. 261, 623-648

KLIGMAN, A.M.
The Myth of the Sebaceous Cyst
Arch. of Dermatol. 89, 253 - 256, 1964

KUNZE, E., SCHAUER, A.
Enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen an Dibentylnitrosamin-induzierten Harnblasenpapillomen der Ratte
Z.f. Krebsforschung 75, 146 - 160, 1970

KUNZE, E., SCHAUER, A., SPIELMANN, D.
Autoradiographische Untersuchungen über den RNS-Stoffwechsel während der Entwicklung von Dibentylnitrosamin-induzierten Harnblasentumoren der Ratte
Z.f. Krebsforschung 76, 236 - 248, 1971

LUDERSCHMIDT, C., PLEWIG, G.
Effects of Cyproteron Acetate and Carboxylic acid on the Sebaceous Glands of the Syrian Hamster
Arch. Dermat. Res. 258, 185 - 191, 1977

MAGEE, P., BARNES, J.M.
Induction of Kidney Tumors in the Rat with Dimethylnitrosamine (N-Nitrosodimethylamine)
J. Path. Bact. 84, 19 - 31, 1962

MATSUMURA, T.
Enzyme Histochemistry of Experimentally Induced Tumors in the Mouse Submaxillary and Sublingual Glands during Carcinogenesis
Gann 57, 251 - 263, 1966

MATSUO, J., OHKIDO, M.
Biochemical Analysis of Sebum
In: TODA, K. et al., Ed.: Biology and Disease of the Hair
581-585, 1976

METZLER, M., NEUMANN, H.G.
Zur Bedeutung chemisch-biologischer Wechselwirkungen für die toxische und krebserzeugende Wirkung aromatischer Amine. IV Stoffwechselmuster von trans-4-Dimethylaminostilben, cis-4-Dimethylaminostilben und 4-Dimethylaminobibenzyl in Leber, Niere und den Ausscheidungsprodukten der Ratte
Z. Krebsforschung 76, 16 - 39, 1971

MILLER, J.A., MILLER, E.C.
The Carcinogenicity of 3-Methoxy-4-aminoazobenzene and its N-Methyl-Derivatives for Extrahepatic Tissues of the Rat
Cancer Res. 21, 1068 - 1072, 1961

MILLER, J.A., MILLER, E.C.
The Metabolic Activation of Carcinogenic Aromatic Amines and Amides
Progr. exp. Tumor Res. 11, 273 - 301, 1969

MILLER, E.C., BUTLER, B.W., FLETCHER, T.L., MILLER, J.A.
Methylmercapto-4-acetylaminostilbenes as Products of the Reaction of N-Acetoxy-4-acetylaminostilbene with Methionine and as Degradation Products of Liver Protein from Rats Given N-Hydroxy-4-acetylaminostilbene
Cancer Res. 34, 2232 - 2239, 1974

MONTAGNA,W., NOBACK, C.R.
Histochemical observations on the sebaceous glands of the rat
Amer.J.Anat. 81, 39-62, 1948

MONTAGNA, W., CHASE, H.B., MELARAGNO, H.P.
The skin of hairless Mice. I. The Formations of Cysts and the Distribution of Lipids
J. Invest. Dermatol. 19, 89 - 94, 1952

MONTAGNA, W.
An introduction to sebaceous glands
J. Invest. Dermatol. 62, 120 - 123, 1974

NEUMANN, H.G., METZLER, M., BRACHMANN, J., THOMAS, C.
Zur Bedeutung chemisch-biologischer Wechselwirkungen für die toxische und krebserzeugende Wirkung aromatischer Amine.
I. Krebserzeugende Wirksamkeit einiger 4-Aminostilben- und Aminobibenzyl-Verbindungen
Z. Kresforschung 74, 200 - 206, 1970

NEUMANN, H.G.
The Metabolism of repeatedly administered trans-4-Dimethylamino-stilbene and 4-Dimethylaminobibenzyl
Xenobiotica 1, 323, 1971

NIIZUMA, K.
Lipid Droplet of Sebaceous Carcinoma
Arch. Dermat. Forsch. 260, 111 - 119, 1977

NIKKARI, T., VALAVAARA, M.
The influence of age, sex, hypophysectomy and various hormons and sebum composition in the rat
Br.J. Dermatol. 83, 459 - 472, 1970

NIKKARI, T.
Comparitive Chemistry of Sebum
J.Invest. Dermatol. 62 (58), 257 - 267, 1974

ÖHLERT, W.
Regeneration, Hyperplasie und Cancerisierung am Beispiel der epithelialen Wechselgewebe
Aus: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Entwicklung und Wachstum II
Springer Berlin, Heidelberg, New York 1969

OLMOS, L., HUNZIKER, N., LAUGIER, P.
Ultrastructure de la kératinisation du kyste sebacé
Arch. Dermatol. Forsch. 250 (3), 261 - 268, 1974

PEARSE, A.G.V.
Histochemistry, Theoretical and Applied
Vol. 1, J. and A. Churchill, Ltd., London 1968

PEARSE, A.G.E.
Histochemistry. Theoretical and Applied
Churchill Livingstone, Livingstone, Edinburgh and London
Vol. 2, 1303, 1972

PETERS, R.F., WHITE, A.M.
The relationship between cyclic adenosine 3',5' monophosphate and biochemical events in rat skin after the induction of epidermal hyperplasia using hexadecane
Br.J. Dermatol. 98, 301 - 314, 1978

PINKUS, H.
"Sebaceous Cysts" are Trichilemmal Cysts
Arch. Dermatol. 99, 544 - 555, 1969

PLISS, G.B.
Tumors of the Auditory Sebaceous Gland
Aus: Pathology of Tumors in Laboratory Animals, Vol. I, Tumors of the Rat, Part 1, Ed. in chief: V.S. TURUSOW
International Agency of Cancer Researche, Lyon 1973

RABES, H., SCHOLZ, P., HARTENSTEIN, R.
Spezifische Stadien im Wachstumsverhalten präneoplastischer Zellen während der Cancerogenese
Verhandl. der dt. Path. Ges., 54. Tagung, 428 - 432, 1970

RJOSK, H.K., NEUMANN, H.G.
Zur Bedeutung chemisch-biologischer Wechselwirkungen für die toxische und krebserzeugende Wirkung aromatischer Amine.
II. Verteilung der Radioaktivität nach Applikation des Tritium-markierten Carcinogens trans-4-Dimethylaminostilben und der beiden unwirksamen Vergleichssubstanzen cis-4-Dimethylaminostilben und 4-Dimethylaminobibenzyl in der Ratte
Z. Krebsforschung 75, 209-220, 1971

ROMEIS, B.
Mikroskopische Technik
R. Oldenburg Verlag, München-Wien, 1048, 256, 1968

RULON, D.B., HELWIG, E.B.
Multiple Sebaceous Neoplasms of the Skin; An Association with Multiple Visveral Carcinomas, Especially of the Colon
Am. J. Clin. Path. 1, 66, 745 - 752, 1973

RULON, D.B., HELWIG, E.B.
Cutaneous Sebaceous Neoplasms
Cancer 33, 82 - 102, 1974

SCHARDEIN, I.L., KAUMP, D.H.
Auditory Canal Structures in Rats as Altered by Aging and by the Administration of Tris (p-aminophenyl)carbonium Pamoate
Cancer Res. 26, 1625 - 1632, 1966

SCHAUER, A., KUNZE, E.
Enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen während der Cancerisierung der Rattenleber mit Diäthylnitrosamin
Z. Krebsforschung 70, 252 - 266, 1968

SCHMÄHL, D., THOMAS, C.
Versuche zur Krebserzeugung an Ratten bei gleichzeitiger oraler Gabe von Diäthylnitrosamin und 4-Dimethylaminostilben
Z. Krebsforschung 67, 135 - 140, 1965

SCHNACKERZ, E.
Persönliche Mitteilung 1979

TAWFIC, H.N.
Studies on Ear Duct Tumors in Rats, Part 1: Incidence and Pathogenesis of 4-Dimethylaminostilbene-Induced Tumors in Donryu Rats
Acta Path. Jap. 15, 247 - 253, 1969

TOSTI, A.
A comparison of the histodynamics of sebaceous glands and epidermis in man: A microanatomic and microphotometric study
J. Invest. Dermatol. 62, 147 - 152, 1974

VAKHTER, H.T., KOOL, M.A.
On the Dynamics of Histochemical Changes in the Skin, when Precancerous Conditions Develop
Vestnik. Dermatologii Venerologii 41, 46 - 49, 1967

VOORHEES, I.J., MARCELLO, C.L., DUELL, E.A.
Cyclic AMP, cyclic GMP, and Glucocortidoides as potential metabolic Regulators of epidermal Proliferation and Differentiation
J. Invest. Dermatol. 65, 179 - 190, 1975

WHEATLEY, V.R., JAMES, A.T.
Studies of Sebum
The Composition of the Sebum of Some common Rodents
Biochem. J. 65, 36 - 42, 1957

WHEATLEY, V.R.
Biochemistry of Sebum
J. Soc. Cosm. Chem. 10, 206 - 214, 1959

WHEATLEY, V.R.
Sebum, Lipogenesis, Lipolysis and Acne
Cutis 17 (3), 475 - 478, 1976

ZYMBAL, W.E.
Histologische und experimentelle Untersuchungen am Epithelgewebe der Talgdrüsen (Gehörgangsdrüse) der Ratte
Z.f. Zellforsch. u. mikroskop. Anat. 18, 596 - 625, 1933

Herrn Prof. Dr. I.F. Herrmann möchte ich für die Überlassung des Themas und für die großzügige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit meinen herzlichen Dank aussprechen.

Lebenslauf

Am neunten September 1951 wurde ich, Vinzenz Johann Haas, als erstes Kind des Landwirts Josef Haas und seiner Ehefrau Maria, geb. Wolfring, in Poppendorf/Fränk. Schweiz geboren. Von 1957 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Poppendorf und trat dann an das Musische Gymnasium der Benediktiner in Niederaltaich/Ndb. über. Dort legte ich im Juni 1971 die Reifeprüfung ab.
Nach Ableistung meiner Wehrdienstzeit bei der Bundeswehr in Traunstein und Bad Reichenhall nahm ich zum Wintersemester 1972 das Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg auf. Im August 1974 bestand ich dort die Ärztliche Vorprüfung, im August 1975 den Ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, im August 1977 den Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und schloß im Oktober 1978 das Studium mit der Ärztlichen Prüfung ab. Anschließend war ich nach Erhalt der Approbation vom ersten Januar 1979 bis zum 15. Juli 1979 an der Anaesthesie-Abteilung des Juliusspitals Würzburg (Chefarzt Dr. Treutlein) als Assistenzarzt tätig. Seit dem 16. Juli 1979 bin ich Assistenzarzt an der Klinik für Hals-Nasen-Ohrenkranke und plastische Gesichtschirurgie der St. Vincentius-Krankenhäuser Karlsruhe (Dir. Prof. Dr. E. Haas) und befinde mich in der Weiterbildung zum Hals - Nasen - Ohrenarzt.

Vinzenz Haas

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80